

**AVALIAÇÃO DE UM REATOR OPERADO EM
BATELADAS SEQUENCIAIS UTILIZADO NO
TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO COM ÊNFASE
NA COMPOSIÇÃO MICROBIOLÓGICA.**

Amanda Stiz de Carvalho

Orientadora: Msc. Heloísa Fernandes

2011/2



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E
AMBIENTAL**

**AVALIAÇÃO DE UM REATOR OPERADO EM BATELADAS
SEQUENCIAIS UTILIZADO NO TRATAMENTO DE ESGOTO
DOMÉSTICO COM ÊNFASE NA COMPOSIÇÃO
MICROBIOLÓGICA**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa
Catarina para a Conclusão do Curso de Graduação em
Engenharia Sanitária e Ambiental.**

AMANDA STIZ DE CARVALHO

**Orientadora
Msc. Heloísa Fernandes**

**FLORIANÓPOLIS, (SC)
DEZEMBRO/2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E
AMBIENTAL**

AMANDA STIZ DE CARVALHO

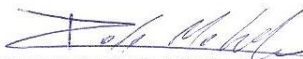
**AVALIAÇÃO DE UM REATOR OPERADO EM BATELADAS
SEQUENCIAIS UTILIZADO NO TRATAMENTO DE ESGOTO
DOMÉSTICO COM ÊNFASE NA COMPOSIÇÃO
MICROBIOLÓGICA.**

**Trabalho submetido à banca examinadora como parte
dos requisitos para a Conclusão do Curso de
Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental-
TCCII.**

BANCA EXAMINADORA:



**Heloisa Fernandes, Msc.
(Orientadora)**



**Rodrigo de Almeida Mohedano
(Membro da Banca)**



**Jamile Wagner
(Membro da Banca)**

**FLORIANÓPOLIS, (SC)
DEZEMBRO/2011.**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar e especialmente a Deus, por ter me acompanhado nesta difícil fase de minha vida e em todas as outras.

A minha orientadora Msc. Heloísa Fernandes, por toda orientação prestada, paciência, dedicação e amizade. Obrigado pelos ensinamentos valiosos.

Aos meus pais Luiz e Lindamir, pessoas excepcionais, pelos valores que me ensinaram e que me tornaram o que sou. Agradeço pelo amor, carinho e cuidados que me dedicaram e principalmente por acreditarem no meu potencial quando até eu mesma não acreditava. Dedico este trabalho a vocês.

Ao meu namorado e amigo, Felipe, por estar ao meu lado sempre me apoiando. Obrigado pelo amor, carinho, companheirismo e por ser tão especial e essencial em minha vida.

Aos meus irmãos Fernando e Rodrigo, eternos companheiros, por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida, sempre torcendo pela minha vitória. Saibam que também torço pelo sucesso e felicidade dos dois.

À minha tia Célia pelas palavras doces e confortantes que me deram força quando eu pensava em desistir.

À minha melhor amiga Cristina e toda sua família que me acolheram de braços abertos quando cheguei a Florianópolis, me proporcionando fins de semana agradáveis e descontraídos.

Ao meu querido amigo Romério, por ouvir meus desabafos e me compreender. Obrigado pelas conversas intermináveis que tornavam meus dias mais leves.

Ao pessoal do LIMA e do LABEFLU (Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos-ENS-UFSC), principalmente as bolsistas Giovana e Gabi, pela execução das análises.

RESUMO

O esgoto doméstico é composto por grandes quantidades de substâncias poluentes, principalmente matéria orgânica e nutrientes. O lançamento destes efluentes não tratados ou tratados de forma inadequada compromete a qualidade dos corpos d'água receptores. O saneamento básico ainda é precário no Brasil, de forma que a rede coletora de esgotos raramente cobre 100% das áreas habitadas. Neste contexto, as estações descentralizadas de tratamento de esgotos apresentam-se como alternativas interessantes para essas áreas, dentre as quais os sistemas compostos por reatores em bateladas sequenciais (RBS). Com o intuito de avaliar a comunidade microbológica de um reator operado em bateladas sequenciais, este estudo foi realizado em uma estação de tratamento localizada em um condomínio residencial da cidade de Florianópolis/SC. Para avaliação da eficiência do reator, foram monitoradas variáveis físico-químicas indicadoras de remoção de matéria orgânica e/ou nutrientes. Ensaios respirométricos foram realizados a fim de determinar, através da velocidade de consumo de oxigênio, a biomassa ativa autotrófica e heterotrófica no reator, bem como verificada a composição microbológica através de microscopia óptica. Para a determinação dos grupos bacterianos presentes, utilizou-se uma ferramenta inovadora da biologia molecular, o FISH (Hibridização Fluorescente *in situ*). As eficiências médias de remoção encontradas para as variáveis NTK, amônia, DQO_t, fosfato, SST e SSV foram, 52%, 60%, 70%, 31%, 71% e 75%, respectivamente. A biomassa ativa era composta em sua maior parte por microrganismos heterotróficos (entre 79 e 94%). Através do FISH, foi determinada a parcela autotrófica, representada pelas β proteobactérias oxidadores de amônio e organismo dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrospira* e *Nitrobacter*. Organismos acumuladores de fosfato (OAP) e sulfatoredutores (DSV) foram também testados, apresentando, porém, rara incidência no período monitorado. A relação de Eubactérias/DAPI variou entre 80 e 90%.

PALAVRAS-CHAVE: Esgoto Sanitário, Reator de bateladas sequenciais, Variáveis físico-químicas, Respirometria e Hibridização Fluorescente *in situ*.

ABSTRACT

The domestic sewage is composed of large numbers of polluting substances, mainly organic matter and nutrients. The launching of untreated inappropriately heated effluents affect the quality of the receiving waters. Basic sanitation is still precarious in Brazil, so the sewage collection network rarely covers 100% of populated areas. In this context, the decentralized sewage treatment stations present themselves as attractive alternatives to these areas, among which are systems composed of sequential batch reactor (SBR). In order to evaluate the microbiological community of a sequencing batch reactor, this study was done in a sewage treatment plant located in a condominium in the city of Florianópolis / SC. To evaluate the efficiency of the reactor, physico-chemical indicators of organic matter and / or nutrients removal were monitored. Respirometric tests were performed to determine, through the velocity of oxygen consumption, the autotrophic and heterotrophic active biomass in the reactor, as well as microbiological composition verified under light microscopy. To determine the bacterial groups present, we used an innovative tool from molecular biology, the FISH (Fluorescent *in situ* hybridization), was used. The average removal efficiencies for TKN, ammonia, CODs phosphate, TSS and SSV were 52%, 60%, 70%, 31%, 71% and 75%, respectively. The active biomass was composed mostly by heterotrophic microorganisms (between 79 and 94%). By FISH, the plot was determined autotrophic, represented by β proteobacteria ammonia-oxidizing organism and the genera *Nitrosomonas*, *Nitrospira* and *Nitrobacter*. Phosphate -accumulating organisms (POA) and sulfate reducers (DSV) have also been tested, showing, however, rare occurrence during the period monitored. The relationship Eubacteria / DAPI ratio ranged between 80 and 90%.

Keywords: Sanitary Sewage, Sequential batch reactor, Physico-chemical variables, Respirometry and Fluorescent in situ hybridization.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Correlação entre amônia-N, eficiência de desnitrificação e alcalinidade.	11
Figura 2: Remoção biológica do fósforo.....	12
Figura 3: Esquema de um sistema de lodos ativados.....	14
Figura 4: Representação esquemática de um SBR.....	16
Figura 5: Fases do sistema SBR.....	17
Figura 6: Efeito sobre a concentração de oxigênio dissolvido, após a adição de substrato.	22
Figura 8: Imagem do reator em período de aeração.....	24
Figura 7: Fases do ciclo do RBS	25
Figura 9: Imagem de um ensaio respirométrico.....	29
Figura 10: Esquema da técnica de FISH.....	32
Figura 11: Concentrações de entrada de Nitrogênio Total Kjeldahl e amoniacal.	36
Figura 12: Valores de concentração de DQO _f no afluente, efluente e Eficiências de Remoção da DQO _f	38
Figura 13: Valores das concentrações de NTK afluente, efluente e Eficiências de Remoção de NTK.	39
Figura 14: Valores das concentrações de amônia afluente, efluente e Eficiências de Remoção da Amônia.	40
Figura 15: Valores das concentrações da fosfato afluente, efluente e Eficiências de Remoção do Fosfato.	42
Figura 16: Valores Afluentes, Efluentes e Eficiências de Remoção dos Sólidos Suspensos Totais.	43
Figura 17: Valores Afluentes, Efluentes e Eficiências de Remoção dos Sólidos Suspensos Voláteis.....	44
Figura 18: Comportamento dos sólidos no reator.	45
Figura 19: Comportamento do pH e do OD no reator.....	46
Figura 20: Comportamento da temperatura no reator.	47
Figura 21: <i>Zoogeleas</i> presentes em amostras de lodo do reator.....	49
Figura 22: Microrganismos presentes no lodo do reator: <i>Vorticella sp.</i>	49
Figura 23: Ciliados livres presentes em amostras de lodo do reator.	49
Figura 24: Respirograma obtido na amostra do reator no dia 15/02.	50
Figura 29: Quantificação dos organismos detectados através da hibridização com sondas específicas em amostras mensais do reator...	54
Figura 30: Células hibridizadas para análise de eubactérias no reator. A) DAPI , B)Bactérias positivas para a sonda EUB.	57
Figura 31: Células hibridizadas para análise de <i>Nitrosomonas sp.</i> no reator. A) DAPI , B) Bactérias positivas para a sonda NEU.....	57

Figura 32: Células hibridizadas para análise de *Nitrospira sp.* no Reator.
A) DAPI , B)Bactérias positivas para a sonda Ntspa. 57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos sistemas de lodos ativados quanto à idade do lodo.....	15
Tabela 2: Sondas utilizadas nas análises das amostras do reator.	32
Tabela 3: Categorias quantitativas das células hibridizadas.....	33
Tabela 4: Características do esgoto afluyente (n = 19).	34
Tabela 5: Entrada, saída e eficiência de remoção de nitrogênio e DQO _f (n= 19).....	37
Tabela 6: Resultados de TCO e TCOe dos ensaios respirométricos.	51
Tabela 7: Composição da biomassa ativa do reator.	52
Tabela 8: Caracterização geral das amostras mensais.	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
APHA	American Public Health Association
CaCO ₃	Carbonato de Cálcio
C/N	Relação carbono/nitrogênio
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
COT	Carbono Orgânico Total
DAPI	4,6 diamidino 2 phenylindoli
DBO	Demanda Biológica de Oxigênio
DBO ₅	Demanda Biológica de Oxigênio de 5 dias
DQO _f	Demanda Química de Oxigênio Filtrada
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
ETE	Estação de Tratamento de Esgotos
FISH	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente
HCl	Ácido Clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IVL	Índice Volumétrico de Lodo
LABEFLU	Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos
LIMA	Laboratório Integrado do Meio Ambiente
m	Metro
MO	Matéria Orgânica
Na OH	Hidróxido de sódio
NDS	Nitrificação e Desnitrificação simultâneas
N	Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio gasoso
NH ₃	Amônia
NH ₄ ⁺	Íon Amônio
NO ₃ ⁻	Nitrato
NO ₂ ⁻	Nitrito
NH ₄ – N	Nitrogênio Amoniaco
NO ₂ – N	Nitrogênio na forma Nitrito
NO ₃ – N	Nitrogênio na forma Nitrato
NTK	Nitrogênio Total Kjeldhal
O ₂	Oxigênio
OAPs	Organismos Acumuladores de Fósforo
OD	Oxigênio Dissolvido
pH	Potencial hidrogeniônico
PO ₄ ³⁻	Fósforo expresso como Fósforo

PHB	Poli-hidroxi-butirato
RBS	Reator em Bateladas Sequenciais
rRNA	Ácido Ribonucléico Ribossômico
SBR	<i>Sequencing Batch Reactor</i>
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
SSF	Sólidos Suspensos Fixos
V_0	Volume estacionário de um RBS
V_F	Volume de troca a cada ciclo de um RBS
V_L	Volume de Lodo
V_S	Volume do lodo quando sedimentado
V_T	Volume total do reator

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. Objetivo Geral.....	4
2.1.1. <i>Objetivos Específicos</i>	<i>4</i>
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Efluentes Domésticos	5
3.2. Tratamento Biológico	6
3.2.1. <i>Remoção de Matéria Orgânica</i>	<i>7</i>
3.2.2. <i>Remoção de Nitrogênio</i>	<i>8</i>
3.2.3. <i>Remoção de fósforo.....</i>	<i>11</i>
3.3. Lodos Ativados	13
3.4. Reatores em Bateladas Seqüenciais	16
3.5. Estratégias de operação e monitoramento	18
3.5.1. <i>Respirometria de Lodos Ativados.....</i>	<i>20</i>
3.5.2. <i>Caracterização microbiológica por meio do FISH.....</i>	<i>22</i>
4. METODOLOGIA	24
4.1. Localização e caracterização da ETE.....	24
4.2. Descrição do RBS	24
4.3. Metodologias Analíticas.....	26
4.3.1. <i>Análises Físico-químicas.....</i>	<i>26</i>
4.4. Microscopia Óptica	27
4.5. Ensaios Respirométricos.....	27
4.6. FISH – “Hibridização Fluorescente in situ”	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
5.1. Análises Físico-Químicas	34
5.1.1. <i>Caracterização do Esgoto Bruto</i>	<i>34</i>
5.1.2. <i>Eficiência de Remoção</i>	<i>36</i>
5.1.3. <i>Remoção de DQO_f.....</i>	<i>37</i>
5.1.4. <i>Remoção de Nitrogênio</i>	<i>39</i>
5.1.5. <i>Remoção de fósforo.....</i>	<i>41</i>
5.1.6. <i>Remoção dos Sólidos.....</i>	<i>42</i>
5.1.7. <i>Comportamento do Reator</i>	<i>44</i>
5.2. Microscopia Óptica	47
5.3. Ensaios Respirométricos	49
5.4. Hibridização Fluorescente in situ - FISH.....	52
6. CONCLUSÕES	58
7. RECOMENDAÇÕES	60
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

1. INTRODUÇÃO

O panorama do saneamento básico no Brasil, apesar de ter passado por melhorias na última década, ainda é bastante insatisfatório. De acordo com a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (IBGE, 2008) no ano de 2000 a coleta de esgoto por rede geral estava presente em 52,2% dos municípios brasileiros passando para 55,2% em 2008. Entretanto, nos municípios em que o serviço existia, houve, no mesmo período, um aumento dos que registraram ampliação ou melhoria no sistema de esgotamento, de 58% para 79,9% do total, e dos domicílios atendidos, de 33,5% para 44%. Em 2008, 68,8% do esgoto coletado era tratado, percentual bastante superior se comparado aos 35,3% de 2000.

Diante desse quadro de saneamento do país, a garantia de esgotamento sanitário se torna ainda mais difícil devido ao crescimento populacional desordenado, principalmente nas grandes metrópoles, onde se produz grandes volumes e há pouca disponibilidade de áreas físicas para construção de Estações de Tratamento. Consequentemente boa parte dos recursos hídricos no Brasil encontra-se com a qualidade comprometida devido ao lançamento de esgotos, de origens diversas, não tratados ou tratados de forma inadequada (BENTO, 2005).

Os efluentes domésticos possuem elevadas concentrações de poluentes e quando lançados nos corpos hídricos são degradados pelos microorganismos, podendo formar nitratos e fosfatos como produtos finais. O excesso de nutrientes no ambiente natural, principalmente fósforo, é o processo conhecido como eutrofização. Este processo acarreta, além do consumo de oxigênio dissolvido pelas reações de oxidação, a floração de algas no corpo d'água receptor, cujos efeitos são: turbidez, cor, maus odores, toxicidade e mortandade de peixes. Esta degradação das reservas hídricas também ocasiona o encarecimento do tratamento dessas águas e o aumento de doenças de veiculação hídrica (LAMEGO NETO, 2008).

O artigo 2º da Lei Federal nº 10.257 de 2001, denomina Estatuto das Cidades a política urbana brasileira que subsidia a promoção da garantia do direito de cidades sustentáveis para as presentes e futuras gerações, bem como adotar padrões de produção, consumo de bens, prestações de serviços e expansão urbana compatíveis com os limites da sustentabilidade ambiental, social e econômica do Município e do território sob sua influência. Assim, a adoção de sistemas de tratamento adequados que promovam, além do saneamento ambiental, a conformidade com as exigências legais de padrões de lançamento de

efluentes e a redução de gastos energéticos vai ao encontro do objetivo do Estatuto das Cidades e conseqüentemente à garantia de cidades sustentáveis no futuro (THANS, 2008).

Geralmente as estações de tratamento possuem apenas tratamento primário, que remove sólidos sedimentáveis, e tratamento secundário para remoção da matéria orgânica, porém o tratamento terciário não é previsto, ou seja, não há remoção eficiente dos nutrientes (nitrogênio e fósforo) (LAMEGO NETO, 2008).

Neste contexto, o tratamento biológico através de lodos ativados são os mais amplamente utilizados no mundo todo, principalmente pela alta eficiência alcançada e a pequena área requerida para implantação, quando comparada a outros sistemas de tratamento (BENTO, 2005).

O tratamento biológico exige contato direto entre os componentes reativos (substrato, biomassa e oxigênio). Uma forma de intensificar esse contato, reduzindo assim o tamanho da unidade tratamento, é aumentar a concentração de biomassa no interior dos reatores biológicos. Porém no processo de lodos ativados, o aumento da concentração de biomassa fica limitado pela condição de transferência de oxigênio e pelo fato de que, em concentrações mais elevadas, a biomassa não pode ser prontamente separada da fase líquida pela simples ação da gravidade (BARBOSA, 2004).

Desta forma, foram desenvolvidos métodos que promovem melhorias no desempenho das estações de tratamento de águas residuárias. Destes métodos, os reatores de bateladas seqüenciais (RBSs) constituem-se em uma importante alternativa de tratamento biológico (KETCHUM JR et. al., 1987 *apud* BARBOSA, 2004).

Na década de 80, o RBS foi aperfeiçoado pelo desenvolvimento tecnológico na área eletromecânica, facilitando a automação da operação e o monitoramento do comportamento do mesmo. Tal aperfeiçoamento contribui para o aumento na estabilidade operacional, economia de energia e redução nos gastos com mão-de-obra. Esses reatores têm sido estudados, nos últimos anos, com fim de remover matéria carbonácea e nutrientes em um único ciclo de operação (ARTAN et al., 2001 *apud* BARBOSA, 2004).

No Brasil, são poucas as estações de tratamento de esgoto doméstico que utilizam os reatores seqüenciais em batelada e aquelas que utilizam, muitas vezes operam de forma inadequada. Ao mesmo tempo, a capacidade de remoção de matéria orgânica e nitrogênio não são explorados em sua plenitude (LUZ, 1998).

Segundo Moreira et al. (2002), não é simples encontrar a estratégia de operação do reator seqüencial de batelada, para que o

mesmo reduza tanto a concentração de matéria carbonácea quanto os nutrientes de águas residuárias até limites desejáveis para descarte. Para isso é recomendado a realização de ensaios práticos.

Sendo assim, o monitoramento de um RBS por meio de ensaios laboratoriais, como medições de variáveis físico-químicas, microscopia, respirometria e biologia molecular (FISH), se torna indispensável na busca de uma estratégia de operação adequada e o mais eficiente possível.

Neste trabalho, monitorou-se um RBS através dos métodos mais comumente utilizados como as análises físico-químicas e microscopia, além da medição do consumo de oxigênio dos microorganismos, denominada respirometria, que permite quantificar os organismos ativos nas fases aeradas (LAMEGO NETO, 2008). Contudo a importância do trabalho está intimamente relacionada a uma ferramenta inovadora da biologia molecular, o FISH, que determina de forma qualitativa e quantitativa os microorganismos, permitindo definir a abundância de um organismo específico em relação a outros (AMANN, 1995). Apesar de a técnica ser considerada uma das mais importantes, simples e rápidas na caracterização da comunidade microbiológica, ela ainda não é utilizada com frequência no Brasil (PERNTHALER, et al., 1998; BOUVIER; GIORGIO, 2003).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar um reator operado em bateladas sequenciais utilizado no tratamento de esgoto doméstico com ênfase na composição microbiológica.

2.1.1. Objetivos Específicos

- Avaliar a eficiência e o comportamento de um Reator em Bateladas Sequenciais quanto às principais variáveis físico-químicas;
- Quantificar a biomassa ativa autotrófica e heterotrófica utilizando ensaios respirométricos;
- Analisar qualitativamente, por meio de microscopia óptica, os microorganismos presentes no reator;
- Identificar os principais grupos microbianos em um RBS por meio da técnica de FISH.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Efluentes Domésticos

As atividades humanas, assim como os processos industriais, podem gerar efluentes contendo além da matéria orgânica carbonácea, elevadas concentrações de nutrientes e de metais pesados (BARBOSA, 2004).

Segundo Jordão e Pessoa (2005), a matéria orgânica dos esgotos domésticos compõe-se principalmente por proteínas (cerca de 40%), carboidratos (25% a 50%) e gorduras e óleos (aproximadamente 10%). Esse material é comumente mensurado em termos indiretos através da DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio) e diretamente por meio do COT (Carbono Orgânico Total).

O esgoto doméstico compõe-se de aproximadamente 99,9% de água e 0,1% de sólidos orgânicos, suspensos e dissolvidos, além de microrganismos patogênicos ou não (Von SPERLING, 1996).

Os efluentes domésticos e industriais, quando lançados em corpos hídricos, sem tratamento ou mesmo submetidos a tratamentos inadequados aportam elevado número de poluentes, principalmente matéria orgânica e nitrogenada, poluindo suas águas e desencadeando inúmeros inconvenientes: cor, maus odores, mortandade de peixes e comprometimento dos possíveis usos desta água, além do aumento de doenças transmitidas pela água. Outra consequência é o encarecimento do tratamento dessas águas quando utilizadas para abastecimento público (LAMEGO NETO, 2008).

Com intuito de preservar os corpos hídricos, evitando o lançamento de efluentes industriais e domésticos sem tratamento, as legislações ambientais, Resolução 430 do CONAMA e Lei Estadual 14675, estabelecem padrões de lançamento de esgotos.

A Resolução 430 do CONAMA, de 2011, estabelece padrões de lançamento de efluentes oriundos de estações de tratamento de esgotos sanitários para a DBO₅ a 20°C, onde o valor máximo de 120 mg/L somente poderá ser ultrapassado quando a eficiência de remoção do tratamento for de no mínimo 60% de DBO ou ainda quando o lançamento não ocasionar a ultrapassagem das condições e padrões de qualidade de água, estabelecido para as respectivas classes, nas condições da vazão de referência. Portanto, para esta e outras variáveis não citados nos padrões de lançamento, deve-se estimar o valor no

ponto de mistura e compará-la com os padrões de qualidade da água conforme a classe do corpo receptor. Já a Lei Estadual 14675 estabelece 80% na remoção de DBO₅ ou um valor máximo de 60mg/L no efluente a ser lançado.

Quanto ao nitrogênio amoniacal e fósforo, a Resolução 430 não estabelece padrões de lançamento de efluentes de ETEs para estas variáveis. Já a Lei Estadual 14675 estabelece no mínimo 75% de remoção de fósforo ou o limite de 4mg/L na concentração do mesmo. Não há padrões de nitrogênio referenciados na lei estadual.

Assim para que se alcancem tais Variáveis estabelecidos pelas legislações é necessário, na grande maioria das vezes, que os esgotos sejam submetidos a processos que removam ou diminuam sua carga poluidora. Esses processos podem ser físicos, químicos, biológicos ou mesmo a combinação entre eles, dependendo das características do efluente a ser tratado.

3.2. Tratamento Biológico

De acordo com Metcalf & Eddy (2003), uma relação DBO₅/DQO maior ou igual a 0,50 indica efluentes de elevada biodegradabilidade, indicando possibilidade de tratamentos biológicos. Quando a relação DBO₅/DQO for muito menor que 0,50 não são recomendados tratamentos biológicos, pois o efluente apresenta baixa biodegradabilidade.

O tratamento biológico de esgoto utiliza-se de microorganismos para a conversão da matéria orgânica e inorgânica das águas residuárias urbanas ou industriais a produtos finais oxidados e novas células. Esta conversão se dá por meio dos processos de respiração e/ou de fermentação, nos quais substâncias complexas são reduzidas a compostos simples como: sais minerais, gás carbônico, nitrogênio gasoso, metano e outros (LAMEGO NETO, 2008).

Neste contexto, para efluentes de elevada biodegradabilidade, que é o caso dos efluentes domésticos, um dos tratamentos biológicos mais amplamente utilizados no mundo todo são os Lodos Ativados.

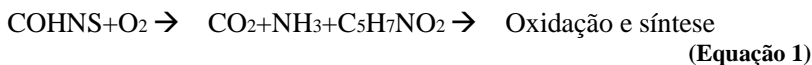
3.2.1. *Remoção de Matéria Orgânica*

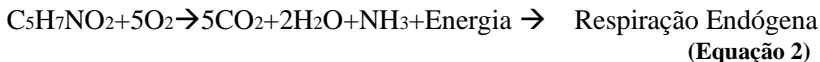
A matéria orgânica carbonácea presente nos esgotos se divide em duas frações, uma biodegradável e outra inerte (ou não biodegradável). A fração inerte não muda sua forma no processo de tratamento e se subdivide em: solúvel – a qual não sofre transformações, saindo do sistema com a mesma concentração da entrada – e particulada – que é envolvida pela biomassa e removida juntamente com o excesso de lodo (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999).

Por sua vez, a matéria orgânica biodegradável é dividida conforme sua facilidade de degradação, ou seja, pode ser de rápida ou de lenta degradação, estando presente na forma solúvel e na forma suspensa. A parcela rapidamente degradada é constituída por moléculas orgânicas pequenas e simples, rapidamente absorvidas e metabolizadas no interior das células, como monossacarídeos, ácidos graxos de baixo peso molecular, aminoácidos e alcoóis. Já a parcela lentamente biodegradável inclui, além das moléculas orgânicas complexas (carboidratos, proteínas e lipídios), moléculas em solução e sob a forma coloidal que têm em comum o fato de não serem absorvidas pelas células sem antes sofrerem hidrólise extracelular (Von SPERLING, 2002).

O substrato, disponível no esgoto afluyente ou produto dos processos de adsorção e absorção, é utilizado pelos microrganismos para geração de energia e síntese celular através do processo de metabolismo. O metabolismo se divide em catabolismo – onde há transformação química do substrato em produtos estáveis e energia – e em anabolismo – onde ocorrem reações que levam a formação de material celular utilizando-se a energia produzida no catabolismo (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999).

Metcalf & Eddy (2003) citando Eckenfelder (1980) propõe as equações 1 e 2 dividindo a conversão da matéria orgânica em duas principais etapas : síntese (anabolismo) e respiração endógena (catabolismo). Na ausência de matéria orgânica o material intracelular, que contém material biodegradável, pode ser oxidado em produtos inorgânicos. Essa oxidação é a chamada respiração endógena.





3.2.2. Remoção de Nitrogênio

O nitrogênio, dentro do seu ciclo na biosfera, pode estar presente em várias formas de compostos, dependendo do estado de oxidação que este pode assumir. Em ambientes aquáticos é encontrado nas formas: nitrogênio molecular (N_2), com concentração em equilíbrio com a atmosfera; nitrogênio orgânico (dissolvido e em suspensão); nitrogênio amoniacal; nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) (dissolvidos). É um constituinte de proteínas, clorofila e outros compostos biológicos. Têm origem em despejos domésticos e industriais, excrementos de animais e fertilizantes agrícolas. Dependendo de sua concentração pode limitar ou favorecer o crescimento de alguns organismos tornando-se um elemento limitante em ambientes aquáticos (Von SPERLING, 2002).

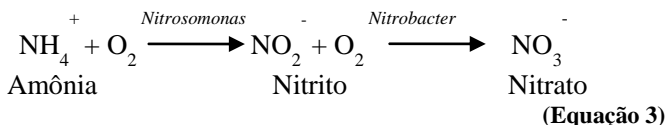
Visando evitar a poluição das águas, o tratamento de águas residuárias tem como um dos principais objetivos a remoção do nitrogênio. Assim, para o controle ambiental os compostos de maior interesse são: Amônia (NH_3), íon Amônio (NH_4^+), nitrogênio gasoso (N_2), íon Nitrito (NO_2^-) e o íon Nitrato (NO_3^-). A forma molecular, não ionizada, coexiste em equilíbrio com o íon amônia-N e a concentração de cada uma depende do pH e temperatura do sistema sendo que em níveis de pH abaixo da neutralidade há apenas uma pequena concentração de amônia-N (NH_3) (Von SPERLING, 2002).

Quando comparada à remoção físico-química, a remoção biológica do nitrogênio é bastante eficiente, principalmente por ser ambientalmente mais compatível com a dinâmica biológica. A remoção biológica do nitrogênio ocorre em duas principais etapas: a de nitrificação autotrófica (onde o NH_4^+ é convertido a NO_3^-) e de desnitrificação heterotrófica (onde o NO_3^- produzido é reduzido a N_2) (JU et al., 2007).

3.2.2.1. Nitrificação

Este processo é realizado por microrganismos que sequencialmente oxidam a amônia para nitrato com formação intermediária de nitritos, sendo o oxigênio molecular utilizado como receptor de elétrons. Dois gêneros específicos de bactérias autotróficas são envolvidos, ao quais usam carbono inorgânico como fonte de

carbono celular: *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Estes dois grupos se diferem por sua habilidade de oxidar espécies específicas de compostos nitrogenados. As *Nitrosomonas* oxidam amônia para nitrito, porém não podem completar a oxidação para nitrato. Já as *Nitrobacter* são limitadas para a oxidação de nitrito para nitrato (WOLFF, 2005).



Embora o gênero *Nitrosomonas* seja mais conhecido para conversão da amônia a nitritos, outros gêneros como *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus* são também capazes de oxidar NH_4^+ para NO_2^- . A conversão de nitritos a nitratos, além da *Nitrobacter*, também pode ser realizada por *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrocystis* (RITTMANN & MCCARTY, 2001 *apud* WOLFF, 2005).

Os principais fatores ambientais que afetam a nitrificação são: relação C/N, temperatura, pH, alcalinidade e concentração de oxigênio dissolvido (OD). Além disso, altas taxas de matéria orgânica inibem o processo de nitrificação, pois propiciam a proliferação de microrganismos heterotróficos que competem com os autotróficos nitrificantes pelo oxigênio e nutrientes. Devida à sensibilidade as condições ambientais e as exigências estritas de crescimento dos organismos nitrificantes, a nitrificação deverá ser o processo de controle nos sistemas biológicos de remoção de nitrogênio (JEYANAYAGAM, 2005).

Thans (2008) citando U. S. EPA (2003), relata que valores de pH abaixo de 6,8 inibem a nitrificação reduzindo sua eficiência. Para Henze et al. (1991), citado pelo mesmo autor, o pH ótimo para as nitrificantes fica entre 8,0 e 9,0.

Outro requisito importante no processo de nitrificação é a alcalinidade do meio. Von Sperling (2002) cita que no processo de nitrificação ocorre formação de ácido fazendo que a alcalinidade seja consumida afim de manter o pH. Para cada grama de nitrogênio-nitrato convertido, são necessários 7,14 g de alcalinidade CaCO_3 .

3.2.2.2. Desnitrificação

Desnitrificação é o processo que envolve a redução de nitrito ou nitrato para nitrogênio gasoso. Realizada por bactérias heterotróficas facultativas, pode utilizar tanto o oxigênio quanto o nitrato como receptor de elétron na geração de energia. Os microrganismos desnitrificantes podem proliferar em ambientes aeróbicos devido à sua habilidade em utilizar o oxigênio e oxidar a matéria orgânica (WOLFF, 2005). Portanto, para que a desnitrificação ocorra é necessário um ambiente com baixo nível de OD disponível, de tal forma que os microrganismos utilizam o oxigênio do NO_3^- e do NO_2^- para respiração, ao invés do oxigênio do ar (LAMEGO NETO, 2008).



(Equação 4)

O processo de desnitrificação pode ser realizado por vários microorganismos, como os pertencentes aos gêneros *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Methylobacterium*, *Bacillus*, *Paracoccus* e *Hyphomicrobium* os quais foram isoladas, como parte da flora microbiana desnitrificantes de ETES (WAGNER et al., 2002). Somam-se à elas os gêneros: *Achromobacter*, *AcilAMEGO NETObacter*, *Flavobacterium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum*, *Gluconobacter*, *Xanthomonas*, *Azospirillum*, *Chromobacterium*, *Vibrio*, dentre outros (METCALF & EDDY, 2003).

A desnitrificação não é tão afetada por fatores ambientais quanto à nitrificação, isso ocorre porque as bactérias desnitrificantes são microrganismos heterótrofos e portanto mais resistentes que as bactérias autotróficas. Algumas das condições ambientais mais favoráveis para a desnitrificação são: pH próximo à 8,0, temperatura em torno de 35°C, ausência de oxigênio (o qual inibe completamente o processo), presença de nitratos ou nitritos e fontes de matéria carbonácea de rápida degradação (LAMEGO NETO, 2008).

Assim como no processo de nitrificação, a relação entre pH e alcalinidade também é muito importante na desnitrificação. Neste processo a concentração de ácidos produzida na nitrificação é então reduzida, cerca de 3,57g de alcalinidade como CaCO_3 é produzido por g de NO_3^- -N consumido (METCALF & EDDY, 2003). Porém, esta quantidade de alcalinidade produzida não é suficiente para repor os 7,14 mg/L de CaCO_3 consumidos no processo anterior, acarretando assim a redução do pH (THANS, 2008).

Hoffmann et al. (2007) elaboraram o gráfico apresentado na Figura 1, que correlaciona a necessidade de desnitrificação de acordo com a quantidade de amônia-N afluente e também com a alcalinidade fornecida pelo esgoto bruto.

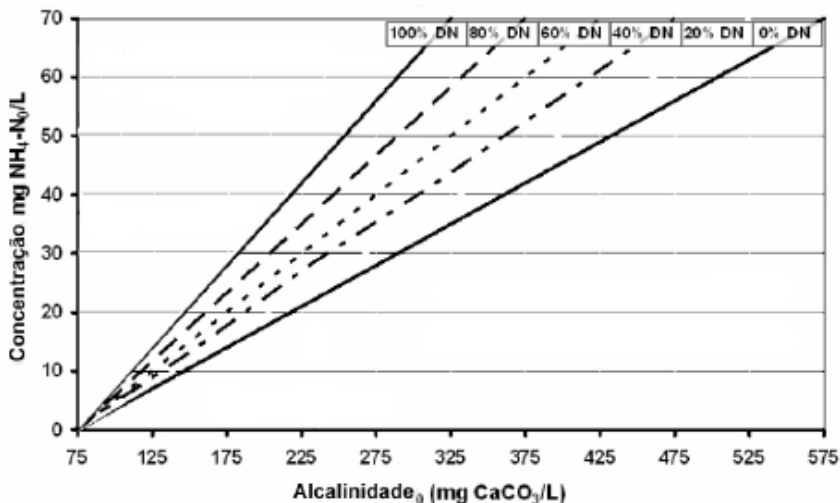


Figura 1: Correlação entre amônia-N, eficiência de desnitrificação e alcalinidade.

(Fonte: Adaptado de HOFFMANN et al. (2007) *apud* THANS, 2008).

3.2.3. Remoção de fósforo

De acordo com Metcalf & Eddy (2003) para que haja remoção biológica de fósforo é indispensável à existência de fases anaeróbias/aeróbias no reator. Essa remoção ocorre através de um grupo específico de bactérias heterotróficas que acumulam o fosfato em excesso, são os chamados Organismos Acumuladores de Fosfato (OAPs) ou bactérias poli-P, as quais apresentam importante capacidade adaptativa uma vez que seu metabolismo opera tanto em anaerobiose quanto em aerobiose.

Revisões da microbiologia de reatores indicam que há uma diversidade de organismos envolvidos na acumulação Poli-P sendo que a taxa de decaimento desses organismos Poli-P é muito menor do que as bactérias aeróbias heterotróficas comuns em tratamento de efluentes. A

constante de decaimento das bactérias poli-P é de $0,04 \text{ d}^{-1}$ a 20°C contra $0,24 \text{ d}^{-1}$ dos microorganismos normais (CROCETTI, 2000).

O processo de remoção ocorre em duas principais etapas: anaeróbia seguida de aeróbia. Na etapa anaeróbia os OAPs liberam os polifosfatos armazenados nas suas células na forma de ortofosfatos (PO_4^{-3}) e convertem a DQO biodegradável a polihidroxialcanoatos (PHAs), principalmente na forma de poli- β -hidroxi-butiratos (PHBs) ou poli- β -hidroxi-valeratos (PHVs), que são então armazenados nas células. Estes polihidroxialcanoatos são metabolizados (oxidados) a gás carbônico e água durante a etapa aeróbia. Nesta etapa, o fosfato é retirado da solução pelos OAPs e rearmazenado em suas células como polifosfatos, ao quais serão posteriormente utilizados para geração de energia (SCHULER & XIAO, 2008).

A remoção biológica do fósforo, na forma de fosfato, pode ocorrer tanto pelo aumento de organismos acumuladores de fosfato (OAPs) quanto pela ampliação da capacidade de armazenamento de fosfato na forma de poli-P que estes organismos possuem. A predominância dos OAPs em ambientes anaeróbios/aeróbios se dá devido a capacidade que eles tem de hidrolisar poli-P, na ausência de oxigênio, para suprir a captação da fonte de carbono. Nestas condições o PHB é acumulado e os ortofosfatos liberados. Em condições aeróbias, os PAOs crescem e o ortofosfato se converte em poli-P às dispensas da degradação de PHB como fonte de carbono e energia (RUBINO et al., 2003). A Figura 2 representa estes mecanismos de liberação e armazenamento do fosfato.

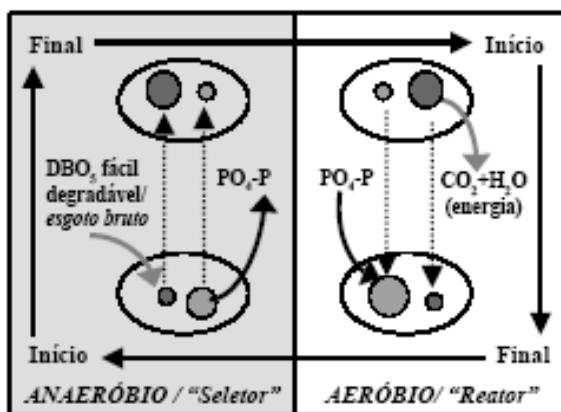


Figura 2: Remoção biológica do fósforo.

(Fonte: Adaptado de COSTA, 2005).

3.3. Lodos Ativados

Lodo ativado é o floco produzido, num esgoto bruto ou decantado, pelo crescimento de bactérias zoogléias e/ou outros organismos, na presença de oxigênio dissolvido, e acumulado em concentração suficiente graças ao retorno de outros flocos previamente formados (JORDÃO & PESSÔA, 2005). O afluente é rigorosamente misturado ao lodo ativado, sendo essa mistura agitada e aerada nos tanques de aeração ou reator biológico. Depois deste processo, o lodo ativado é separado do efluente tratado por sedimentação nos decantadores. Parte do lodo ativado separado retorna para o reator, e a parte excedente é descartada enquanto que o efluente já tratado passa para o vertedor do decantador no qual ocorreu a separação (LAMEGO NETO, 2008).

O processo de lodos ativados consiste em submeter esgotos brutos ou pré-tratados em presença de uma massa ativa de microrganismos em um ambiente aeróbio pela introdução de oxigênio. Essa massa biológica, denominada de lodo ativado, cresce e flocula através de suas funções naturais de nutrição e reprodução, utilizando o substrato orgânico como fonte de energia promovendo a sua oxidação ou estabilização, diminuindo o conteúdo orgânico no tanque de aeração. O ambiente aeróbio é mantido por dispositivos de aeração, usualmente por insuflação de ar comprimido ou pela agitação da superfície líquida por meio de aeração mecânica ou difusa (SOUZA, 2003).

Segundo Von Sperling (2002), o processo de lodos ativados é composto por quatro etapas:

- Tanque de aeração onde ocorrem reações bioquímicas inerentes à atividade biológica de microrganismos, os quais estão na forma de flocos em suspensão;
- Decantador onde ocorre separação das fases líquida e sólida (lodo ativado);
- Retorno do lodo sedimentado ao reator de aeração para manter a idade do lodo e a concentração de biomassa;
- Retirada do excesso de lodo produzido.

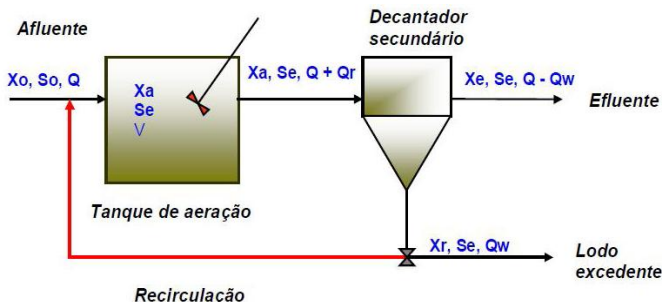


Figura 3: Esquema de um sistema de lodos ativados
(Fonte: Von SPERLING, 2002).

No tanque de aerção, a biomassa em suspensão se utiliza do substrato afluente como fonte energia para seu crescimento e multiplicação e realiza um fenômeno chamado de biofloculação que proporcionará a separação entre fases (Von SPERLING, 2002).

Os flocos biológicos são formados pelos decompositores (principalmente bactérias), que metabolizam a matéria orgânica dissolvida no esgoto e são responsáveis pela estruturação dos flocos, e pelos consumidores (protozoários e metazoários), que se alimentam de bactérias e outros microorganismos, além de serem importantes na remoção de *E.coli* e na redução da DBO_5 . Também são encontrados rotíferos, nematódeas, anelídeos e larvas de insetos nesta comunidade microbiológica. Através da composição da micro-fauna do lodo é possível analisar tendências do processo de lodos ativados em relação à eficiência na remoção de DBO_5 e sólidos suspensos (SS); às condições de sedimentação do lodo; ao nível de aerção empregada; a toxicidade; e ainda à ocorrência de sobrecargas orgânicas e nitrificação (HOFFMANN *et al*, 2001).

No decantador secundário, os flocos biológicos formados no tanque de aerção serão então separados da fase líquida. Variáveis como pH, alcalinidade e compostos tóxicos afetarão a biofloculação, a estabilidade do floco e, conseqüentemente, a qualidade do efluente clarificado.

Após sedimentação do lodo no decantador, o mesmo retorna ao tanque de aerção aumentando assim o tempo de permanência do lodo no sistema, também denominado de idade do lodo e, no caso de sistemas para remoção de nutrientes, propicia o retorno de subprodutos

produzidos no reator. O excesso de lodo produzido pelo crescimento celular é descartado quando necessário.

Quanto à idade do lodo, os processos de lodos ativados podem ser classificados em lodo ativado convencional, com idade de lodo entre 4 a 10 dias e volume do reator biológico menor, e lodos ativados de aeração prolongada com frequência de retirada de lodo reduzida e idade bastante elevada, entre 18 a 30 dias. Outra classificação pode ser feita em relação ao fluxo de alimentação: fluxo contínuo e fluxo intermitente ou batelada (Von SPERLING, 2002).

Tabela 1: Classificação dos sistemas de lodos ativados quanto à idade do lodo.

Idade do Lodo	Carga de DBO₅ aplicada (Kg DBO₅ /m³.dia)	Faixa de idade do lodo	Denominação Usual
Reduzidíssima	Altíssima 1,5 – 6	Inferior a 3 dias	Aeração modificada
Reduzida	Alta 0,6 – 0,8	4 a 10 dias	Lodos Ativados Convencionais
Intermediária	Intermediária 1,5 – 3	11 a 17 dias	-
Elevada	Baixa 0,3	18 a 30 dias	Aeração prolongada

(Fonte: Adaptado de Von SPERLING, 2002).

O tratamento biológico exige contato direto entre os componentes reativos (substrato, biomassa e oxigênio). Uma forma de intensificar esse contato, reduzindo assim o tamanho da unidade tratamento, é aumentar a concentração de biomassa no interior dos reatores biológicos. Porém no processo de lodos ativados, o aumento da concentração de biomassa fica limitado pela condição de transferência de oxigênio e pelo fato de que, em concentrações mais elevadas, a biomassa não pode ser prontamente separada da fase líquida pela simples ação da gravidade (BARBOSA, 2004).

Neste contexto, os reatores sequenciais de batelada (RSB) constituem-se em uma importante alternativa de tratamento biológico, sendo o mais promissor e a mais viável das modificações de lodos ativados para remoção do carbono e nutrientes orgânicos (KETCHUM JR et. al., 1987 *apud* BARBOSA, 2004).

3.4. Reatores em Bateladas Sequenciais

O princípio do RSB consiste na incorporação de todas as unidades processos e operações do tratamento convencional de lodos ativados – decantação primária, oxidação biológica e decantação secundária – em uma única unidade. Assim, esses processos e operações passam a ser simplesmente seqüências no tempo, e não unidades separadas como ocorrem nos processos convencionais (Von SPERLING, 2002).

O processo incorpora um tanque de volume variável, conforme a Figura 4. O volume total (V_T) é composto por frações independentes: o volume estacionário (V_0) que compreende o volume de lodo sedimentado (V_S) diluído no volume de efluente tratado não retirado; e o volume que é retirado ou enchido a cada ciclo (V_F).

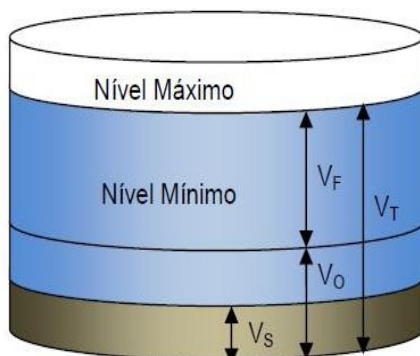


Figura 4: Representação esquemática de um SBR.

(Fonte: Adaptado de Artan e Orhon(2005) *apud* THANS, 2008).

Artan e Orhon (2005) citados por Thans (2008), descrevem que o processo de lodos ativados em bateladas envolve operação cíclica, em estado estacionário e com alimentação intermitente, durante determinados períodos ou durante todo ciclo, exceto nas fases de sedimentação e retirada. Comumente um ciclo no Reator em Bateladas Sequenciais opera em cinco fases conforme a Figura 5.

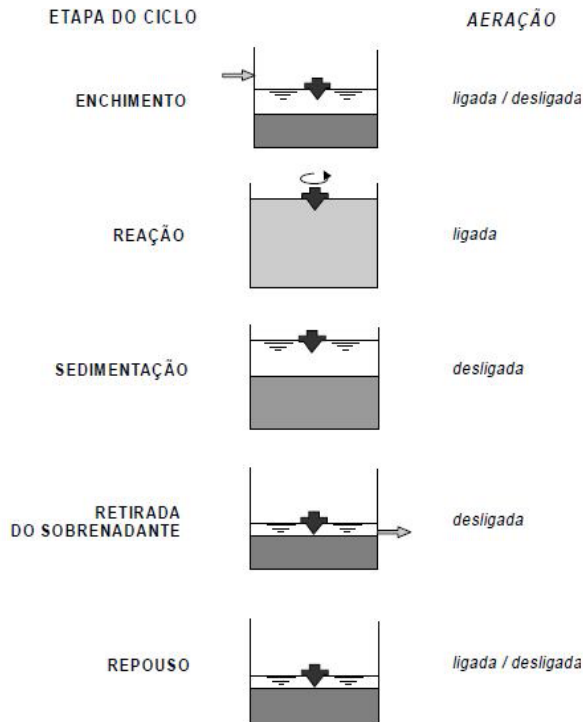


Figura 5: Fases do sistema SBR
(Fonte: Von SPERLING, 2001).

1. Enchimento: o afluente alimenta o reator até um nível determinado pela operação ou conforme a disponibilidade. Nesta fase a aeração pode estar presente ou não.

2. Reação Biológica: nesta fase os aerados devem estar ligados a fim de manter o fornecimento de oxigênio requerido pelas reações que consomem matéria orgânica (MO) e transformam o NH_4^+ . Para que ocorra nitrificação seguida de desnitrificação, os aeradores devem ser desligados, assim as condições anóxicas prevalecem por um período de tempo.

3. Sedimentação: a aeração é desligada para que se ocorra sedimentação dos sólidos em suspensão no tanque até determinada altura da manta de lodo. Não há necessidade de equipamentos específicos para a sedimentação.

4. Retirada do efluente: através de um vertedor o efluente clarificado é retirado. Usualmente mantêm-se uma pequena altura de

proteção do clarificado acima de manda de lodo, denominada altura de transição.

5. Repouso e retirada do lodo excedente: além da retirada do lodo em excesso, esta fase ajusta o tempo entre o fim de um ciclo e o início do outro.

Segundo Metcalf & Eddy (2003), a porcentagem do tempo de cada período, em relação à duração completa do ciclo, pode ser: enchimento= 25%, reação= 35%, sedimentação= 20%, decantação= 15% e repouso= 5%.

3.5. Estratégias de operação e monitoramento

Como já mencionado no item 3.3, em sistemas de tratamento do tipo RBS, os organismos se concentram, e formam uma unidade estrutural mais complexa, denominada floco. Embora os microrganismos sejam os agentes da remoção, o floco desempenha um papel fundamental no processo de remoção da matéria orgânica e dos nutrientes (Von SPERLING, 2002).

Quando analisada a remoção de nitrogênio, a oxidação biológica da amônia ocorre primariamente, através da coordenação de dois grupos bacterianos quimiolitotróficos distintos, as quais oxidam a amônia a nitrato, processo esse denominado nitrificação. Em relação à remoção de nitrato, Metcalf & Eddy (2003) afirmam que esse processo pode ser realizado de diferentes formas. Uma delas na fase de enchimento com mistura, outra através da aeração cíclica, alternando entre fases aeróbias e anóxicas, e ainda existe a possibilidade de operação com uma baixa concentração de OD, promovendo nitrificação e desnitrificação simultâneas. Porém a forma mais eficiente de desnitrificação para remoção do nitrato-N é aquela realizada com um período de mistura e sem aeração. Além disso, este tipo de operação ainda impede o desenvolvimento de organismos filamentosos, os quais prejudicam a sedimentação. Grande parte do nitrato-N produzido durante o ciclo aeróbio precedente permanece no tanque. A massa de nitrato-N, restante do ciclo anterior, pode ser reduzida durante as fases de enchimento e reação, em meio anóxico, e onde há disponibilidade de matéria orgânica.

No caso do fósforo, para que haja sua remoção biológica, é indispensável a presença das OAPs, bem como a variação entre as condições anaeróbias (para liberação dos polifosfatos e conversão da DQO biodegradável a PHA) e condições aeróbias ou anóxicas (onde os PHAs são metabolizados como fonte de carbono orgânico e de energia levando à um rearmazenamento dos polifosfatos). Assim, a remoção

biológica do fósforo envolve a sua incorporação na biomassa celular e a retirada do fósforo do sistema ocorre através do descarte da biomassa (SCHULER & XIAO, 2008).

Essa concentração de bactérias envolvidas nos diferentes processos de remoção pode ser mensurada através da concentração de sólidos suspensos no licor misto. Teoricamente, quanto mais sólidos em suspensão, no sistema, maior a eficiência do processo, proporcionando maior remoção de demanda química de oxigênio (DQO) e nutrientes (WHANG et al., 2006).

Nos reatores RSB, portanto, torna-se necessário determinar os tempos de funcionamento das diferentes etapas do processo, ajustando os tempos de operação em função das características da água residuária que se deseja tratar, já que os tempos de cada etapa influenciam e determinam as estratégias de tratamento (CASTELLÓ et al., 2002).

Irvine e Bush (1979) citados por Pires e Figueiredo (1998) concluíram que o fornecimento de oxigênio influencia diretamente a concentração de carbono durante as fases de enchimento e reação.

Portanto, para se encontrar a estratégia de operação adequada de um RSB, a fim de reduzir tanto a carga orgânica quanto a fração de nutriente presente nos esgotos com a máxima eficiência possível, recomenda-se o monitoramento do comportamento do reator. Além disso, a verificação da presença e predominância de determinados organismos é de extrema importância na eficiência do processo. Esse monitoramento e verificação podem ser realizados por meio de ensaios laboratoriais como medições de variáveis físico-químicas, microscopia, ensaios respirométricos e técnicas de biologia molecular (FISH), além de outros.

Na Alemanha, por exemplo, a análise microscópica de lodo é prescrita legalmente para sistemas de lodos ativados que atendem mais de 10.000 habitantes. Os resultados dessas análises são utilizados para alterar as características operacionais do sistema, tais como a idade do lodo e a concentração de oxigênio dissolvido no reator (Hoffmann *et al*, 2001). Já no Brasil, a maioria das estações de tratamento de esgotos é monitorada e controlada pelas análises físico-químicas. As análises microscópicas são raras, geralmente realizadas em curtos períodos de tempo e seus resultados são na sua maioria subtilizados (BENTO, 2005).

3.5.1. *Respirometria de Lodos Ativados*

Um indicador muito importante das condições do processo de lodos ativados é a determinação da velocidade com que o lodo consome oxigênio (SPANJERS et al., 1996). As características do efluente e os custos do tratamento são fortemente influenciados pelo consumo de oxigênio, pois este parâmetro é diretamente associado ao crescimento de biomassa e consequentemente a remoção do substrato (WOLFF, 2005). Logo, a determinação do consumo de oxigênio constitui uma importante técnica para a caracterização de águas residuárias, e também para o controle da operação dos tanques aerados nas estações de tratamento de efluentes (MARSILILIBELLI & TABANI, 2002). A essa técnica de medição e interpretação do consumo de oxigênio denomina-se respirometria e o instrumento utilizado para tal é o respirômetro. Existem respirômetros mais simples, operados manualmente, e outros mais complexos que possuem operação automatizada (SPANJERS et al., 1996).

A respirometria pode medir tanto o consumo de oxigênio quanto a quantidade de dióxido de carbono produzida pelos microrganismos em uma amostra líquida. Porém o primeiro método, por ser mais simples, é o mais utilizado. A velocidade de consumo de oxigênio é determinada através da observação da taxa de diminuição da concentração de oxigênio dissolvido (OD) no efluente de um reator biológico, quando o fornecimento de ar aquele reator é interrompido (SPERANDIO, 1998 *apud* LAMEGO NETO, 2008). Essa velocidade, também conhecida como taxa de consumo de oxigênio (TCO), pode ser medida reduzindo-se a concentração de OD do efluente de 1 a 2 mg/L, tal redução normalmente é obtida dentro de poucos minutos após a interrupção da aeração (Van HAANDEL & CATUNDA, 1982 *apud* LAMEGO NETO, 2008).

Assim, a respirometria baseia-se na determinação da TCO, a qual considera as variações na taxa de respiração do lodo devido ao tipo de substrato e a velocidade de degradação, após a interrupção da aeração. Neste processo, a concentração de OD tende a diminuir devido ao consumo de oxigênio pelos microrganismos. O gráfico que representa a taxa de consumo de OD em função do tempo de medição (mgO₂/L.h), é denominado respirograma e a análise de seu comportamento permite indicar como a biomassa responde à presença de alimento (FERREIRA et al., 2002).

Segundo Wolff (2005) citando vários autores, através de medidas respirométricas é possível determinarem-se variáveis cinéticas

(RIEFLER, 1998) e estequiométricos; as concentrações de componentes biodegradáveis em esgoto bruto, lodo ativado e substratos orgânicos facilmente biodegradáveis (SPANJERS et al., 1994, VANROLLEGHEM et al., 1999 e SPERANDIO & PAUL, 2000); fracionamentos de DQO (SPERANDIO, 1998); monitoramento de nitrificação (SURMACZ-GORSKA et al., 1996); estudo da influência da concentração do substrato na velocidade de nitrificação (BARROS et al., 2003); determinação da biomassa ativa, autotrófica e heterotrófica (OCHOA et al., 2002) e elementos tóxicos.

Usualmente a respirometria é utilizada na determinação da biomassa ativa autótrofa e heterótrofa em sistemas de lodos ativados. Visando uma melhor compreensão e controle do desempenho de reatores na remoção da matéria carbonácea e nitrogenada, é de fundamental importância conhecer a repartição da biomassa ativa. Para tal, é necessário calcular o consumo do oxigênio em três condições diferentes para obtenção: da respiração endógena; do consumo de oxigênio durante a nitrificação da amônia sem fonte de carbono; e da respiração exógena com adição de fonte de carbono após a inibição da nitrificação (WOLFF et al., 2003).

Portanto, na determinação da velocidade de consumo de oxigênio consideram-se as variações na taxa de respiração do lodo em consequência da adição do tipo de substrato. A absorção do oxigênio se desenvolve em duas fases principais (ANDREOTTOLA et al. 2005):

Respiração endógena do lodo: representa o oxigênio necessário para a respiração do lodo, ou seja, a energia requerida para manter as funções das células. Neste caso, se realiza a fase endógena da taxa de absorção de oxigênio;

Degradação do substrato: representa o consumo de oxigênio por parte dos microrganismos para a degradação dos substratos presentes no líquido. Neste caso, se realiza a fase exógena da taxa de absorção de oxigênio.

Na respiração endógena o lodo utiliza o oxigênio de forma contínua, a velocidade de consumo do OD é aproximadamente constante, conforme demonstra a inclinação uniforme da reta a-b da Figura 6. Adicionando-se o substrato no instante b, provoca-se um incremento momentâneo na velocidade de absorção do oxigênio, representado pela reta b-d. Posteriormente à degradação total do substrato, a situação no interior do sistema retorna às condições

endógenas iniciais, assumindo após o ponto d uma inclinação similar a original (ANDREOTTOLA et al. 2005).

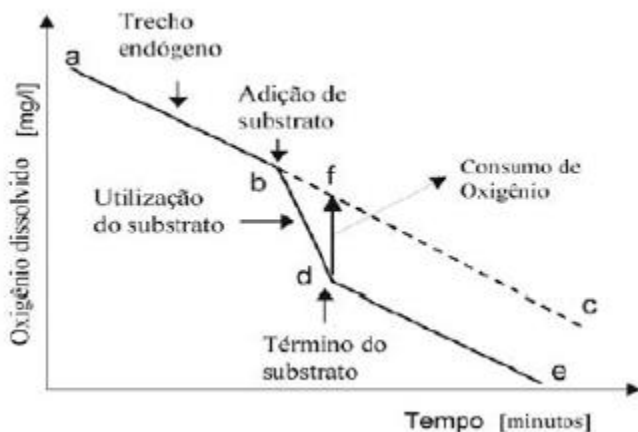


Figura 6: Efeito sobre a concentração de oxigênio dissolvido, após a adição de substrato.

(Fonte: Andreottola et al., 2005)

A proporção entre a velocidade de consumo de oxigênio máxima (com substrato abundante) e a velocidade de consumo de oxigênio mínima (sem substrato – respiração endógena) traz informações sobre a capacidade metabólica, ou seja, a atividade do lodo (COSTA et al., 2007).

Antes da adição do substrato é importante que se observe o estado de respiração do lodo, ou seja, o lodo deve estar respirando mesmo na ausência do substrato exógeno (respiração endógena), pois um dos objetivos do ensaio respirométrico é conhecer as características biológicas do efluente (SPANJERS & KLAPWIJK, 1990 *apud* LAMEGO NETO, 2008).

3.5.2. Caracterização microbiológica por meio do FISH

A caracterização da comunidade microbiológica presente em sistemas de tratamento apresenta-se como uma importante ferramenta no controle dos processos biológicos. A biologia molecular, por meio da técnica de FISH (Hibridização Fluorescente *in situ*), tem sido atualmente, considerada umas das mais importantes, simples e rápidas,

sendo aplicadas na caracterização da comunidade microbiológica em amostras ambientais de águas e solos, sendo utilizada também para sistemas de tratamento biológico (PERNTHALER, et al., 1998; BOUVIER e GIORGIO, 2003).

“A técnica de FISH baseia-se na observação de que existem seqüências conhecidas e tão específicas do RNAr de um organismo, que permite que se desenhe uma seqüência complementar (sonda) à primeira” (AMANN, 1995). As sondas de oligonucleotídeos são seqüências sintetizadas in vitro, e geralmente possuem de 15 a 20 nucleotídeos, sendo complementares às regiões RNAr 16S do alvo, ou seja, das bactérias que se deseja detectar (FERNANDES, 2009).

Ao penetrar nas células bacterianas fixadas, as sondas formam ligações estáveis (Híbridos) via pontes de hidrogênio entre nucleotídeos complementares, com a região 16S rRNA nos ribossomos. Não havendo complementariedade entre a seqüência da sonda e a região 16S rRNA do ribossomo, não ocorre a hibridização e os oligonucleotídeos são lavados das células (AMANN; LUDWIG; SCHLEIFER, 1992 *apud* FERNANDES, 2009).

A detecção da ocorrência de hibridização ocorre devido a moléculas marcadoras fluorescentes acopladas à sonda. Tais marcadores, também chamados fluorocromos, são comumente empregados à exemplo: fluoresceína (FLUOS), cianinas (Cy3, Cy5 e Cy7), tetrametilrodamina (AMANN, 1995). O Cy3 tornou-se o marcador mais utilizado, pois apresenta maior estabilidade melhorando a detecção da hibridização em amostras ambientais (GLÖCKNER et al., 1996 *apud* BENTO, 2005). A visualização das células hibridizadas pode ser realizada através de microscopia de epifluorescência ou em microscopia confocal.

Wagner e Amann (1997) citados por Bento (2005) relatam que a alta relação entre a sonda EUB (sonda para bactérias) e o marcador DAPI – DNA intercalating dye 4,6 diamidino – 2 – phenylindoli (marca todas as células, 100% dos indivíduos), significa que grande parte das bactérias no reator estão metabolicamente ativas, já que as bactérias não hibridizadas com a sonda EUB estão metabolicamente inativas ou não permeáveis aos nucleotídeos da sonda pelo procedimento padrão de fixação.

4. METODOLOGIA

4.1. Localização e caracterização da ETE

O presente estudo realizou-se em uma estação descentralizada de tratamento de esgotos, em escala real, dimensionada e operada pela empresa Rotária do Brasil. Localizado na Rodovia Virgílio Várzea, no bairro João Paulo em Florianópolis, a estação situa-se em um condomínio residencial, possuindo 840 habitantes que contribuem com uma vazão média diária de 141 m³/dia de esgoto. Compreendendo tratamento preliminar e secundário, o sistema de tratamento de efluentes é composto pelas seguintes unidades:

- Caixa de chegada composta por: desarenador, caixa de gordura e equalizador;
- Reator em Bateladas Seqüenciais e
- Tanque de contato (desinfecção).

4.2. Descrição do RBS

Com volume total de 155 m³, o reator possui as seguintes dimensões: 4,2 m de altura, 4,5 m de largura e 11,15 m de comprimento. A Figura 8 traz a imagem do reator no período de aeração.



Figura 7: Imagem do reator em período de aeração.

A entrada do esgoto sanitário no reator acontece de forma descontínua, ou seja, o enchimento do tanque é escalonado e ocorre durante as etapas sem aeração, são nestas etapas que ocorre a desnitrificação. A nitrificação se dá na fase aerada do reator, através de aeração artificial.

Este Reator em Bateladas Sequenciais é totalmente automatizado, funcionando num ciclo de 8 fases, cada fase com 1 hora, totalizando um ciclo de 8 horas conforme a Figura 7 abaixo:

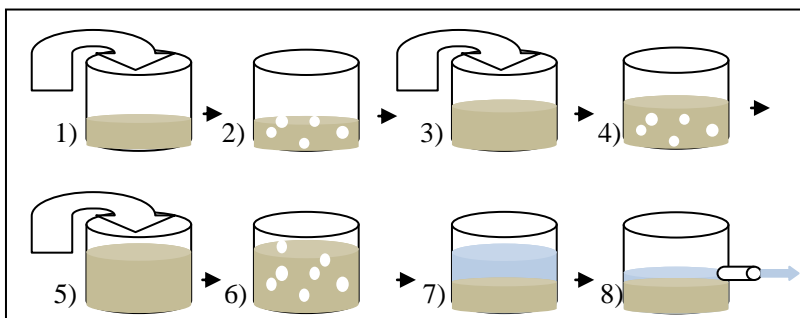


Figura 8: Fases do ciclo do RBS

- 1) Enchimento: cerca de 1/3 do volume total do reator sem aeração;
- 2) Fase Aerada;
- 3) Fase Anóxica com enchimento;
- 4) Fase Aerada;
- 5) Fase Anóxica com enchimento;
- 6) Fase Aerada;
- 7) Decantação;
- 8) Retirada do efluente clarificado.

Além disso, quando o lodo sedimentado no reator atinge os níveis pré-determinados em projeto, sensores acionam o sistema de bombeamento para retirada do excesso de lodo.

Antes de ser lançado na rede pluvial, o efluente clarificado ainda passa por processo de desinfecção, através da adição da solução de hipoclorito de sódio a 12%. Esta última etapa do tratamento baseia-se no Decreto Municipal de Florianópolis nº 077/96, o qual regulamenta a emissão de efluentes na rede pluvial municipal.

4.3. Metodologias Analíticas

As amostras foram coletadas semanalmente, entre os meses de fevereiro e junho de 2011 (15/02 até 27/06), com o auxílio de uma proveta “modificada”, adaptada com uma corda, para a altura do reator, totalizando 19 amostras. O esgoto bruto foi coletado diretamente do tanque de equalização (entrada) do RBS. As amostras do reator foram coletadas durante as etapas de aeração (fase em que ocorria mistura do efluente) e o efluente tratado era coletado diretamente da caixa de contato (saída) após adição de hipoclorito de sódio 12% (desinfecção). Posteriormente, as amostras eram armazenadas em frascos plásticos coletores e encaminhadas ao Laboratório Integrado do Meio Ambiente (LIMA) no ENS para a realização das análises físico-químicas, biológicas e microscópicas.

4.3.1. Análises Físico-químicas

As metodologias utilizadas nas análises físico-químicas seguiram o recomendado pelo Standard Methods (APHA, 2005). Abaixo, tem-se uma descrição dos procedimentos analíticos utilizados:

- **Alcalinidade Total (mg/L de CaCO_3):** A alcalinidade foi determinada por titulação potenciométrica com H_2SO_4 (0,02 N).
- **pH, Temperatura (T) e Oxigênio Dissolvido (OD):** As medições do pH, Temperatura (T) e Oxigênio Dissolvido (OD) foram realizadas com Sonda multi-Variáveis (YSI 6620);
- **Nitrito (N-NO_2^-), Nitrato (N-NO_3^-), Fosfato (P-PO_4^-), Cloreto e Sulfato:** Determinados através do aparelho DIONEX – DX 120 de cromatografia líquida de troca iônica;
- **Nitrogênio Amoniacal (N-NH_4):** As amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose (0,45 μm). A análise foi determinada utilizando o método colorimétrico de Nessler e a leitura realizada em espectrofotômetro;
- **Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK):** Determinado pela digestão em meio fortemente ácido em temperatura elevada. A amostra

digerida é redissolvida em água destilada e alcalinizada, para em seguida passar por destilação com arraste da amônia e titulação com ácido sulfúrico 0,02 N;

- **Demanda Química de Oxigênio (DQO):** A DQO solúvel foi realizada pelo método colorimétrico em refluxo fechado utilizando o KIT da marca AlfaKit e sua leitura em espectrofotômetro;
- **Sólidos Suspensos Totais (SST):** Foram determinados por meio de filtração o vácuo em filtro de membrana de vidro e posterior pesagem do filtro com o resíduo seco em estufa a 105 °C;
- **Sólidos Suspensos Fixos (SSF):** Após a determinação dos SST, as membranas são colocadas nos cadinhos e levadas para mufla a 550°C durante 30 min. Em seguida, são colocados em um dessecador até atingir a temperatura ambiente, para posterior pesagem;
- **Sólidos Suspensos Voláteis (SSV):** Obtido pela diferença entre os SST e os SSF;

4.4. Microscopia Óptica

A verificação da morfologia dos microrganismos presentes no lodo ativado foi realizada através da microscopia óptica, baseada no método adaptado por Hoffmann e colaboradores (2001). As análises objetivavam acompanhar o desenvolvimento da biomassa e detectar possíveis problemas nos reatores através de microrganismos indicadores das condições de operação. As amostras foram coletadas quinzenalmente e avaliadas por meio de microscópio óptico binocular (Olympus BX-40).

4.5. Ensaio Respirométrico

Com o intuito de determinar a biomassa ativa autotrófica e heterotrófica presente no reator e ainda a velocidade específica de

respiração celular, foi realizada a medição do oxigênio consumido em três diferentes condições:

- 1) *respiração endógena* (TCO_{end});
- 2) consumo de oxigênio durante a nitrificação (TCO_A), sem fonte de carbono, após a adição de substrato específico (NH_4Cl) para as bactérias autotróficas; e
- 3) *respiração exógena* (TCO_H) com adição de fonte de carbono ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, substrato para as bactérias heterotróficas), após a inibição da nitrificação com Allylthiourea (ATU) - que é um inibidor seletivo do grupo das *Nitrosomonas*.

Os ensaios respirométricos foram realizados conforme metodologia descrita por Wolff e colaboradores (2003). Para isto, mensalmente, 1 litro de amostra foi coletada na fase aerada do ciclo, e submetida à aeração prévia durante 24 horas, através de um difusor de ar. Este procedimento garantia que todo o substrato disponível fosse consumido para que se iniciasse a respiração endógena. Terminada às 24 horas de aeração, a amostra era colocada em uma proveta de 1 litro e após 30 minutos verificado o valor do índice Volumétrico de Lodo (IVL). Cerca de 400 mL de lodo sedimentado era utilizado e o sobrenadante descartado. Completava-se o volume novamente para 1 litro, adicionando-se uma solução de macronutrientes (NaCl , KH_2PO_4 e MgSO_4). Após preparada a amostra, esta foi transferida para o erlenmeyer componente do respirômetro (Figura 9) e procedeu-se com a determinação dos Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) e do pH, o qual deve ser mantido o mesmo ou próximo daquele medido no reator no dia da coleta. Caso o pH se diferencie muito, este parâmetro deve ser corrigido com adição de solução básica (NaOH) ou ácida (HCl).

Primeiramente preparou-se o respirômetro colocando o oxímetro, para leitura da concentração de OD a cada 5 segundos, na abertura principal do erlenmeyer contendo a amostra. Esta foi submetida à aeração e agitação constantes até que o oxímetro se estabilize, neste momento interrompe-se a aeração, porém a agitação foi mantida para evitar a sedimentação da biomassa. Após a concentração de oxigênio dissolvido cair 1 mg/L, a aeração é novamente retomada até que a saturação seja alcançada. Então adicionou-se o pulso de amônia (NH_4Cl) e mais uma vez desligou-se a aeração mantendo-se a agitação magnética. Após a queda de 1mg/L de concentração de oxigênio dissolvido, retomou-se a aeração novamente até a saturação. Depois se adicionou o pulso de ATU para inibir as bactérias nitrificantes e

aguardou-se a estabilização do OD quando, enfim, adicionou-se o pulso de glicose ($C_6H_{12}O_6$). Como anteriormente, interrompeu-se a aeração, mantendo-se apenas a agitação, e após a queda de 1 mg/L de concentração de oxigênio dissolvido retomou-se a aeração até sua saturação. O arranjo dos equipamentos utilizados no ensaio está apresentado na Figura 9.



Figura 9: Imagem de um ensaio respirométrico.

As informações gravadas no oxímetro foram posteriormente transferidas para o computador através do programa Eco Watch Ysi Inc. (3.18.00). Os dados foram trabalhados em Excel e os respectivos gráficos gerados, sendo considerada a variação de OD (mg/L) em função do tempo (horas). Tais gráficos são denominados respirogramas. Através deles é possível determinar a taxa de consumo de oxigênio (TCO) em condições de respiração endógena e exógena.

A TCO de cada fase é o próprio coeficiente angular da reta, porém para obtenção da Taxa de Consumo de Oxigênio Específica (TCO_e) é necessário, também, o valor de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), conforme a equação 5 (SCHMIDELL, 2001 *apud* LAMEGO NETO, 2008).

$$TCO_e = \frac{1}{X} \frac{dO_2}{dt}$$

(Equação 5)

Onde:

TCO_e é a velocidade específica de respiração (g O₂/g cel.h);

X é a concentração celular (g cel/m³) e

(dO_2/dt) é a velocidade de consumo de O_2 ($g\ O_2/m^3.h$).

A biomassa ativa heterotrófica (BA_H) e a biomassa ativa autotrófica (BA_A) foram calculadas de acordo com o ASM1 – Activated Sludge Model n. 1 (HENZE et al., 1987 apud LAMEGO NETO, 2008), através das Equações 6 e 7:

$$X_A = \frac{1}{\mu_{A\max}} \frac{Y_A}{1 - Y_A} (TCO)_{A\max}$$

(Equação 6)

$$X_H = \frac{1}{\mu_{H\max}} \frac{Y_H}{1 - Y_H} (TCO)_{H\max}$$

(Equação 7)

Onde:

X_H : concentração de biomassa heterotrófica ($mg\ DQO/L$);

X_A : concentração de biomassa autotrófica ($mg\ DQO/L$);

$\mu_{H\max}$: taxa de crescimento heterotrófico (d^{-1});

$\mu_{A\max}$: taxa de crescimento autotrófico (d^{-1});

Y_H : taxa de conversão heterotrófica ($g\ DQO/g\ DQO_{oxidado}$);

Y_A : taxa de conversão autotrófica ($g\ DQO/g\ N_{oxidado}$);

$(TCO)_{H\max}$: velocidade de consumo de oxigênio da biomassa heterotrófica ($mgO_2/L.h$);

$(TCO)_{A\max}$: velocidade de consumo de oxigênio da biomassa autotrófica ($mgO_2/L.h$).

Como já citado anteriormente, os valores de TCO_{\max} são obtidos por meio do respirograma. Os Variáveis estequiométricos Y_{AH} e cinéticos μ_{\max} utilizados para o cálculo são obtidos na literatura, sendo que os valores de μ_H e μ_A foram corrigidos conforme temperatura do experimento ($20^\circ C$) (HENZE et al., 1987 apud LAMEGO NETO, 2008), sendo:

Y_H : $0,63\ g\ DQO/g\ DQO_{oxidado}$;

Y_A : $0,24\ g\ DQO/g\ N_{oxidado}$;

μ_H : $6\ d^{-1}$;

μ_A : $0,75\ d^{-1}$.

4.6. FISH – “Hibridização Fluorescente in situ”

A técnica de FISH foi realizada segundo Amann (1995), em amostras coletadas mensalmente, utilizando-se sequências complementares conhecidas do ácido ribonucleico ribossômico (rRNA) de alguns microrganismos alvo que se desejava detectar. Fernandes (2009) resume a metodologia empregada, em sete principais etapas:

- 1) Coleta, fixação das amostras com paraformaldeído (PFA) 4% e conservação das amostras em congelador (-20°C);
- 2) Imobilização e desidratação das células sobre a lâmina;
- 3) Hibridização das células com oligonucleotídeos fluorescentes (sondas);
- 4) Lavagem das lâminas para otimização da estringência;
- 5) Coloração das células com DAPI;
- 6) Adição de anti “fading” (CitiFluor) sobre a amostra recém preparada (para evitar a perda da fluorescência) e cobertura da lâmina com lamínula;
- 7) Observação em microscópio epifluorescente.

A ligação da sonda (ligadas a fluorocromo do tipo cianina 3 - Cy3) com a sequência complementar no rRNA foi detectada por microscopia de epifluorescência (microscópio Olympus modelo BX-41). Para estimativa de abundância de células hibridizadas, consideraram-se 100% do total de indivíduos as células coradas com DAPI. A Figura 10 sintetiza as etapas de hibridização pelo método de FISH.

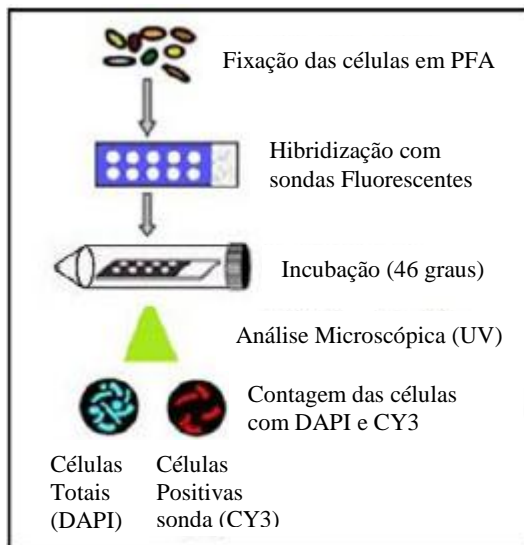


Figura 10: Esquema da técnica de FISH.
(Fonte: Adaptado de KIELING, 2004)

As nove sondas utilizadas neste trabalho, suas especificidades, sequências e respectivas concentrações de formaldeído (FA) estão citadas na Tabela 2. As sequencias foram obtidas através do acesso ao probeBase.

Tabela 2: Sondas utilizadas nas análises das amostras do reator.

Sonda	Especificidade	Sequência (5' - 3')	FA(%)
EUB mix (I+II+III)	Todas as bactérias	GCTGCCTCCCGTAGGAT CAGCCACCCGTAGGTGT CTGCCACCCGTAGGTGT	20
NEU	<i>Nitrosomonas</i> sp.	CCCCTCTGCTGCACTCTA	40
DSV 407	<i>Desulfobionaceae</i>		50
NIT 3	<i>Nitrobacter</i> sp.	CCTGTGCTCCATGCTCCG	40
NOS 190	Todas AOB beta	CGATCCCCTGCTTTTCTCC	55
Ntspa 662	<i>Nitrospira</i>	GGAATTCCGCGCTCCTCT	35
Thio 51	<i>Thiobacillus</i>	GTCATGAAACCCGCGTGGT	35
PAO 846	<i>Candidatus</i> "Accumulibacter <i>phosphatis</i> "	GTTAGCTACGGCACTAAAAGG	35
PAO 651	Maioria dos membros <i>Candidatus</i> <i>Accumulibacter</i> clusters	CCCTCTGCCAACTCCAG	35

Na estimativa da abundância de células hibridizadas utilizou-se um sistema de análise subjetivo, comparando-se a área de cobertura do campo óptico das células coradas pelo DAPI com a área de cobertura das células hibridizadas pela sonda, conforme a Tabela 3.

Tabela 3: Categorias quantitativas das células hibridizadas.

Categoria	Descrição	Quantidade
0	Nenhuma	0% DAPI
1	Raras	Até 5% DAPI
2	Poucas	5 – 30% DAPI
3	Algumas	30 – 60% DAPI
4	Muitas	60 – 100% DAPI

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Análises Físico-Químicas

5.1.1. Caracterização do Esgoto Bruto

A Tabela 4 apresenta as características do esgoto bruto (valores médios, mínimos e máximos), num período de monitoramento de 5 meses (fevereiro à junho de 2011). Analisando a tabela fica evidente a variação significativa na composição do afluyente durante o monitoramento, sendo os Sólidos Suspensos o parâmetro com maior variação, entre 53 e 1200 mg/L. A parcela volátil em relação aos sólidos, em termos percentuais, variou entre 63 e 98%, com média de 85%. Esses valores indicam a predominância dos sólidos voláteis sobre os sólidos fixos. Metcalf e Eddy (2003) indicam a faixa típica para esgotos domésticos entre 70 e 85%. Para Henze et al. (1995) citado por LAMEGO NETO (2008), quanto mais próxima de 100% esta relação, maior a parcela de matéria orgânica nos SST.

Tabela 4: Características do esgoto afluyente (n = 19).

Variáveis	Média ± Desvio Padrão	Máximo	Mínimo
SST (mg/L)	297,5 ± 317,0	1200	53
SSV (mg/L)	248,1 ± 253,8	933	43,5
SSV/ SST (%)	84,7 ± 11,1	97,6	63,2
Temperatura	25,8 ± 2,2	29,3	21,6
OD (mg/L)	0,6 ± 0,46	2,3	0,3
pH	7,2 ± 0,57	8,9	6,6
Condutividade	718,2 ± 83,97	887	589
Alcalinidade (mg/L)	210,4 ± 40,6	296,7	76,7
DQO _r (mg/L)	181,2 ± 31,2	250,6	125,2
NTK (mg/L)	57,5 ± 12,8	93,5	41
Amônia (mg/L)	46,2 ± 7,4	63,3	34,6
Fosfato (mg/L)	9,4 ± 5,12	16,7	0,0
Nitrito (mg/L)	0	-	-
Nitrato (mg/L)	0	-	-

Os valores de pH apresentam variação ao redor da neutralidade, entre 6,6 e 8,9 com valor médio de 7,2. De acordo com Medeiros

(2005), citando McKinney (1962), estes valores encontram-se dentro da faixa para crescimento e predominância normais das bactérias.

Sabe-se que a nitrificação é um processo que consome alcalinidade, em torno de 7,14g de CaCO_3 para cada grama de nitrogênio-nitrato convertida, enquanto que a desnitrificação produz 3,57g por grama de NO_3^- -N consumido (METCALF & EDDY, 2003). Baseando-se no gráfico adaptado de Hoffmann et al. (2007) *apud* Thans (2008) apresentado no item 3.2.2.2, que relaciona amônia, eficiência de desnitrificação e alcalinidade, percebe-se que a alcalinidade média de 210 mg/L do esgoto bruto é suficiente para manter o pH, porém o valor mínimo de 77 mg/L, mesmo com 100% de eficiência na desnitrificação, não impediria a redução do pH a níveis indesejáveis.

Quanto à concentração da carga orgânica, em termos de DQO_5 , houve variação entre 135 e 251 mg/L, com valor médio de 181,2 mg/L. Já para o nitrogênio amoniacal, obteve-se um valor médio de 46 mg/L variando de 35 à 63 mg/L, ou seja, a alta concentração de nitrogênio amoniacal exige uma nitrificação bastante eficiente. Von Sperling (2002) apresenta valores típicos de nitrogênio amoniacal para esgotos domésticos na faixa de 20 a 40 mg/L. O Nitrogênio Total Kjeldahl variou de 41 à 93 mg/L com média de 57 mg/L. Para essa variável, o mesmo autor apresenta uma faixa típica de 35 à 70 mg/L. A parcela de nitrogênio orgânico em relação ao nitrogênio total Kjeldahl fica em média 20%, sendo o restante a parcela amoniacal. Em geral, aproximadamente 75% do NTK esta sob forma amoniacal e 25% sob a forma de nitrogênio orgânico (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999). Esta relação fica evidenciada na Figura 11, a qual foi elaborada com 19 amostras para o NTK e, devido a erros de medição, 18 amostras para a amônia.

De forma geral, segundo as faixas típicas determinadas por alguns autores citados neste item, o esgoto bruto se enquadra dentro da normalidade para os parâmetros avaliados e esperados para o Esgoto Doméstico.

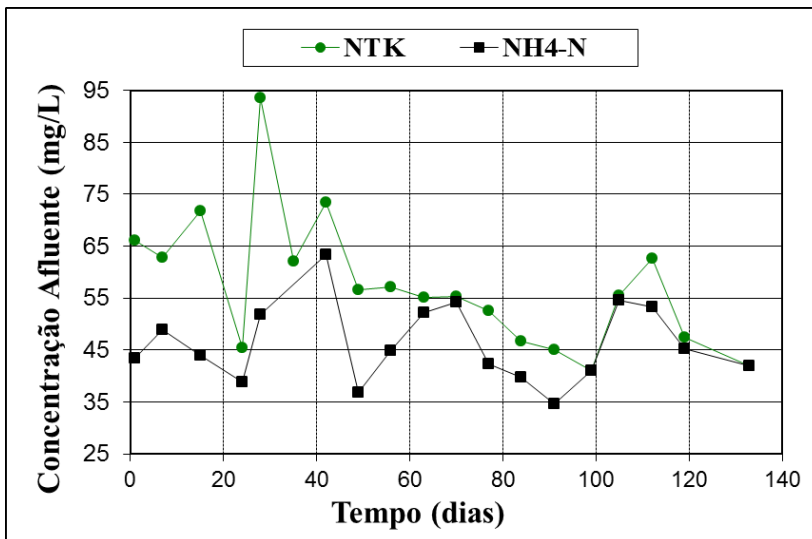


Figura 11: Concentrações de entrada de Nitrogênio Total Kjeldahl e amoniacal.

5.1.2. Eficiência de Remoção

A eficiência do reator foi analisada através de variáveis que indicam a presença de matéria carbonácea e nitrogenada, tais como DQO, amônia, NTK e fósforo. A Tabela 5 apresenta as concentrações de entrada, saída e respectiva eficiência de remoção para os principais variáveis a serem removidas no tratamento. Todos os valores médios e desvios padrões foram calculados para um número de amostras (n) igual a 19, exceto a entrada e eficiência da amônia, onde o valor (n) ficou reduzido a 18 amostras devido a erros de medição.

As maiores eficiências encontradas foram na remoção de matéria orgânica em termos de DQO_F , com valor médio de 70% e variação entre 9 e 97%. Para o Nitrogênio Total Kjeldahl, obteve-se média de remoção de 58%, variando entre 8% e 82%. Já no caso do nitrogênio amoniacal, a média na eficiência de remoção foi de 60% com mínima e máxima de 35 e 83% respectivamente.

O Nitrogênio Total Kjeldahl é composto por uma parcela de nitrogênio orgânico e outra amoniacal. Assim diminuindo-se os valores médios de saída dos valores médios de entrada de NTK e amônia, têm-se os valores médios do nitrogênio orgânico. Para este parâmetro,

estima-se uma eficiência média de remoção do nitrogênio orgânico de aproximadamente 31%.

Tabela 5: Entrada, saída e eficiência de remoção de nitrogênio e DQO_f (n= 19).

Dia	Data	NTK (mg/L)			NH ₄ - N (mg/L)			DQO _f (mg/L)		
		Entrada	Saída	E (%)	Entrada	Saída	E (%)	Entrada	Saída	E (%)
	1° -15/02	66,1	40,9	38,1	43,4	12,3	71,7	217,6	14,8	93,2
	7° -21/02	62,7	40,0	36,3	49,0	29,6	39,5	250,6	59,7	76,2
	15° -01/03	-	-	-	44,0	18,9	57,1	178,7	49,5	72,3
	24° -10/03	45,4	25,8	43,2	38,8	25,2	34,9	125,2	6,0	95,2
	28° -14/03	93,5	31,9	65,9	51,8	30,5	41,0	142,9	114,3	20,0
	35° -21/03	62,2	25,8	58,5	-	-	-	223,1	27,7	87,6
	42° -28/03	73,4	37,5	48,9	63,3	12,3	83,2	226,4	190,9	15,7
	49° -04/04	56,6	30,8	45,5	36,8	17,7	51,8	185,4	38,0	79,5
	56° -11/04	57,1	19,9	65,2	44,9	18,1	59,8	187,1	128,2	31,5
	63° -18/04	55,2	51,2	7,3	52,1	33,0	36,7	204,2	186,3	8,7
	70° -25/04	55,3	11,8	78,7	54,1	10,1	81,4	193,4	19,6	89,8
	77° -02/05	52,6	11,0	81,5	42,3	7,8	79,1	191,2	16,5	91,4
	84° -09/05	46,7	16,0	71,1	39,8	11,5	65,8	151,0	5,2	96,6
	91° -16/05	45,1	15,9	64,7	34,6	11,6	66,3	162,3	42,1	74,1
	99° -24/05	41,0	23,2	43,3	41,0	21,5	47,7	170,1	24,2	85,8
	105° -30/05	55,4	29,7	46,5	54,5	22,4	59,0	167,0	57,6	65,5
	112° -06/06	62,6	22,3	64,4	53,2	19,3	63,7	135,0	13,9	89,7
	119° -13/06	47,4	16,7	64,8	45,3	13,5	70,2	161,6	37,5	76,8
	133° -27/06	42,0	15,1	64,0	42,0	16,3	61,3	170,9	23,2	86,4
Média±Desvio		57,5 ±	25,8 ±	52,0 ±	46,2 ±	18,0 ±	59,5 ±	181,2 ±	55,5±	70,3±
Padrão		12,8	15,1	21,4	7,4	7,4	15,1	33	57,3	28,7

5.1.3. Remoção de DQO_f

A remoção da DQO_f apresentou média de 70% chegando até 97% de eficiência. Em sua pesquisa realizada num reator de bateladas sequenciais, Thans (2008) registrou eficiência média de 91% em relação à remoção de DQO_f .

Em sua pesquisa realizada num RBS, Wagner (2011) encontrou eficiências de remoção para a DQO solúvel de 64% para um ciclo de 3 horas e 82% para um ciclo de 4 horas. Campos (2006), em seu estudo realizado em um RBS de leito fluidizado, encontrou uma eficiência

média de remoção carbonácea, em termos de DQO_T e DQO_s residual, de 91,8%.

As piores eficiências do reator em termos DQO_f , ocorreram nos dias 63º, 42º, 28º e 56º de monitoramento (18/04, 28/03, 14/03 e 11/04), respectivamente. Nos dois dias (63º e 42º) em que o reator apresentou menor eficiência de remoção de DQO_f , foi observado a ocorrência de uma queda de energia ocasionando a finalização do ciclo, antes de ocorrer a última alimentação com esgoto e última nitrificação. Nos outros dois dias de baixa eficiência (28º e 56º), o ciclo do reator excedeu às 8 horas para as quais foi dimensionado (9h:56m e 12h:43m, respectivamente) com aumento no tempo da primeira fase de aeração (6h:55m e 3h:41m, respectivamente). No entanto, para o 28º dia, o valor de OD foi um dos maiores registrados (1,5 mg/L) porém, o de SSV foi um dos menores (1,03 g/L), devido a uma retirada de lodo que ocorreu alguns dias antes, o que pode ter contribuído para a baixa remoção da matéria carbonácea pela biomassa. Já para o 56º dia, foi observada situação inversa ao 28º dia, sendo os valores de SSV elevados (4,93 g/L), porém, o valor de OD no reator foi muito baixo (0,4 mg/L), dificultando dessa forma, a assimilação da matéria orgânica pela microbiota. Com exceção desses quatro dias, onde a remoção máxima foi de 32%, a eficiência do reator mostrou-se satisfatória. A Figura 12 apresenta o comportamento da DQO_f ao longo do monitoramento.

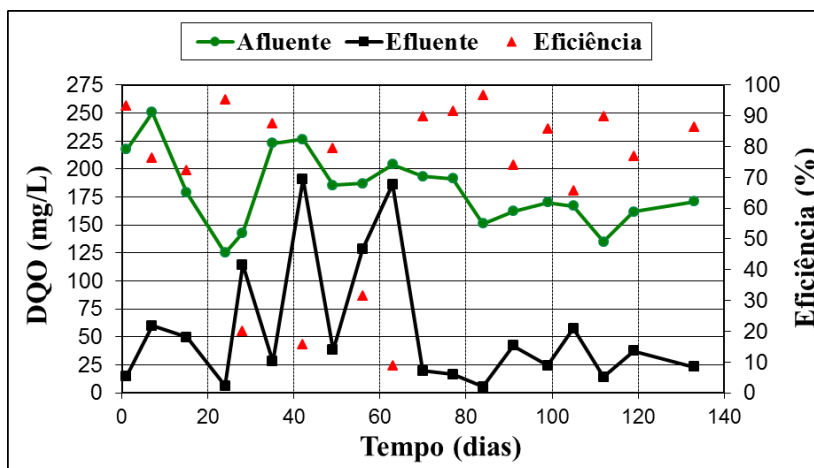


Figura 12: Valores de concentração de DQO_f no afluente, efluente e Eficiências de Remoção da DQO_f .

5.1.4. Remoção de Nitrogênio

5.1.4.1. Nitrogênio Total Kjeldhal

O nitrogênio total Kjeldhal é composto por uma parcela amoniacal e outra orgânica. Para este parâmetro obteve-se eficiência média de remoção de 52%, com mínima de 7,3%, correspondendo ao 63º dia de monitoramento (18/04). Neste dia houve queda de energia, comprometendo assim a eficiência do reator, sendo que a remoção de DQO_f apresentou a menor eficiência e a remoção de amônia ficou abaixo da média. A máxima de 82% ocorreu no 77º dia de monitoramento (02/05). A Figura 13 representa o comportamento do nitrogênio total ao longo do monitoramento.

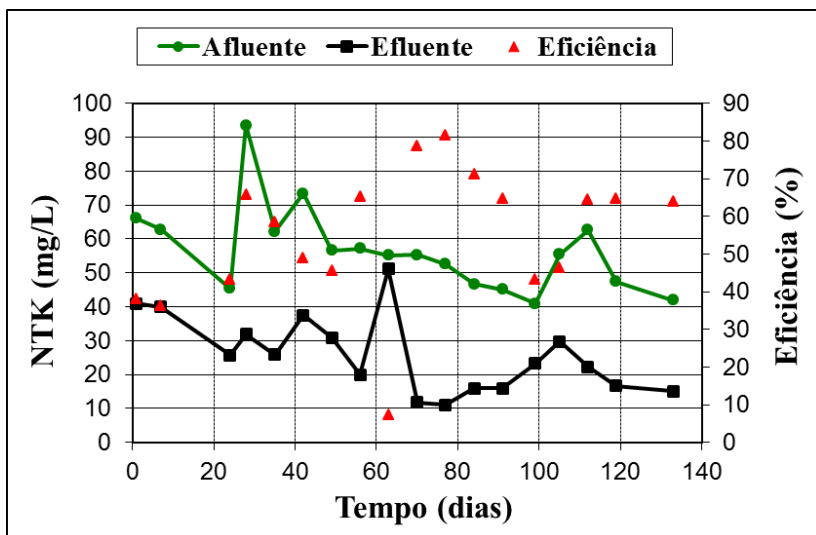


Figura 13: Valores das concentrações de NTK afluente, efluente e Eficiências de Remoção de NTK.

A legislação ambiental de Santa Catarina limita em 10 mg/L o valor de nitrogênio total para lançamento em estuários, lagoas e lagunas (corpos lênticos), sendo este valor a soma de NTK, nitrito e nitrato. Portanto, em nenhum dos dias monitorados o efluente se encontrava de acordo com a legislação catarinense.

5.1.4.2. Nitrogênio Total Amoniacal

A Figura 14 ilustra o comportamento da amônia ao longo do monitoramento. Na elaboração deste gráfico, foi utilizado número de amostras (n) igual a 18. Analisando esta figura, percebe-se que para a data 28/03, 42º dia de monitoramento, o reator apresentou a maior eficiência em relação à remoção de amônia (83%), porém a remoção de DQO_f foi de apenas 16%. Neste dia um dos aeradores, que estava desativado desde o início do monitoramento foi religado, garantindo mais aeração ao sistema. Além disso, nesta data o afluente apresentava a maior concentração de nitrogênio.

Wagner (2011) analisando as eficiências de remoção de matéria carbonácea e nitrogenada em um RBS obteve valores de 18% para remoção de amônia num ciclo de 3 horas e 69% num ciclo de 3 horas.

Thans (2008) estudando o processo NDS em um reator em bateladas sequencias, observou valores de remoção de amônia de 80 a 92% na Etapa I e de 95 a 100% na Etapa II.

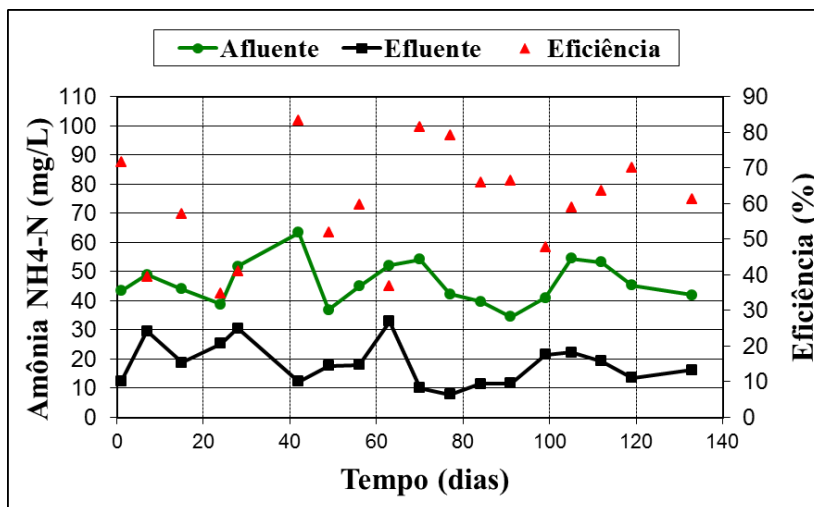


Figura 14: Valores das concentrações de amônia afluente, efluente e Eficiências de Remoção da Amônia.

Apesar do monitoramento das formas de nitrogênio (nitrito e nitrato) ter sido realizado com amostras do reator, estes resultados não serão apresentados neste item, pois grande parte deles foi nulo.

5.1.5. Remoção de fósforo

A remoção biológica do fósforo foi analisada através do monitoramento do fosfato, a eficiência média em relação a este parâmetro foi bastante baixa, apenas 31%, variando de 0 a 92%. Dos 19 dias monitorados, nove (9) deles apresentaram valores efluentes maiores que os afluentes, ou seja, eficiências “negativas” de remoção de fosfato, mostrando um incremento deste. Esse comportamento também foi verificado por LAMEGO NETO (2008) em sua pesquisa realizada em um reator híbrido operado em bateladas sequenciais, o qual sugeriu a ocorrência desse fenômeno devido a relargagem de P decorrente do aumento de NO_2 (baixa desnitrificação) e/ou valores baixos de OD no final desses ciclos, aumentando assim a quantidade de fosfato no efluente.

No reator estudado não foi verificada a acumulação de nitrito ou nitrato ao longo de todo monitoramento, situação normal em processos de NDS. No entanto, baixos valores de OD foram encontrados em quase todo período, com média de 0,7 mg/L nas fases de aeração e 0,11 mg/L nas fases sem aeração. Comportamentos similares ao encontrado neste estudo foram relatados por diversos autores em pesquisas sobre desfosfatação biológica (GRADY et al., 1999; JU et al., 2007), com reatores anóxicos/aeróbios (RBS e NDS), sendo este processo atribuído a atividade dos OAPs, submetidos a frequentes condições anóxicas.

O comportamento do fosfato ao longo do monitoramento pode ser verificado na Figura 15.

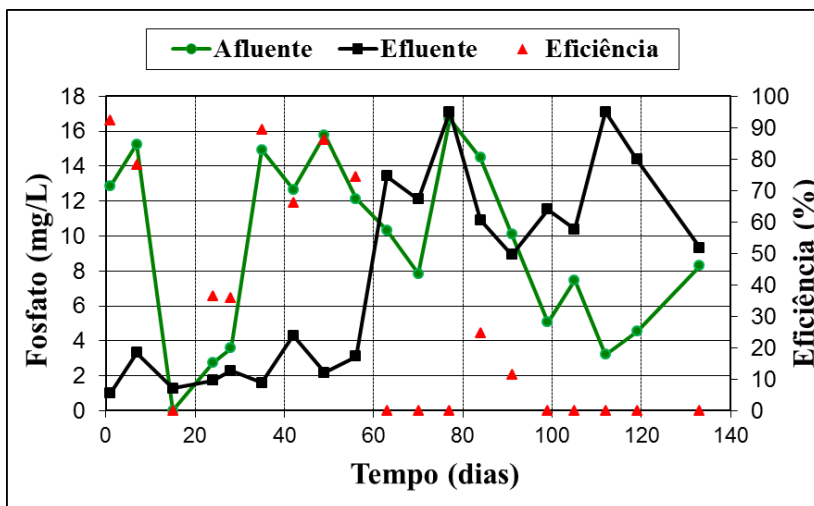


Figura 15: Valores das concentrações da fosfato afluente, efluente e Eficiências de Remoção do Fosfato.

A legislação ambiental de Santa Catarina limita o valor de fósforo total em no máximo 1mg/L para lançamento de efluentes líquidos em ambientes lênticos. No entanto, no primeiro dia de monitoramento, o qual apresentou menor concentração efluente de fosfato, observou-se que este valor já se encontrava no limite referido para o fósforo total.

5.1.6. Remoção dos Sólidos

Em média a remoção de Sólidos Suspensos Totais no reator foi de 71%, com variação entre 18% e 97%, nos 70º e 49º dias de monitoramento. No 70º dia de monitoramento (25/04), apesar da baixa eficiência em relação aos SST, as eficiências de remoção de amônia e DQO_f apresentaram-se acima das médias (70% e 60%, respectivamente). Analisando a Figura 16, contam-se cinco dias com remoção abaixo de 50%. Na maioria desses dias foram observadas concentrações afluentes de SST bem abaixo da média (298mg/L), com exceção do 15º dia.

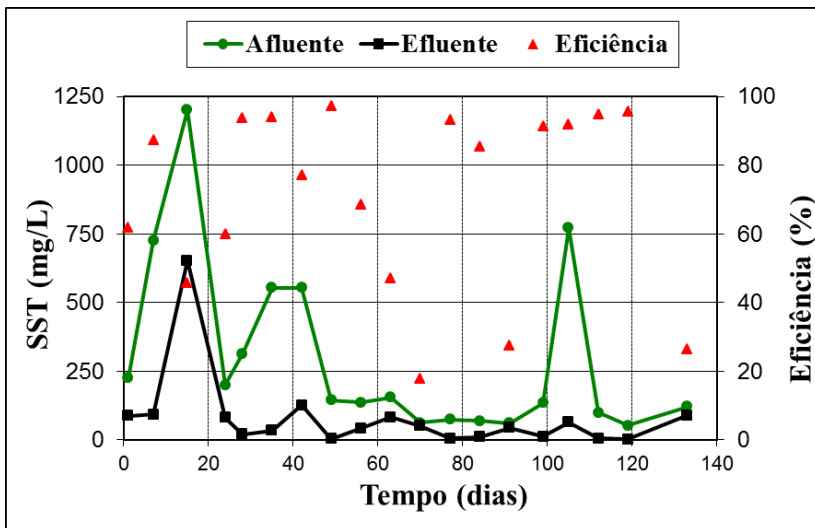


Figura 16: Valores Afluentes, Efluentes e Eficiências de Remoção dos Sólidos Suspensos Totais.

A média de remoção de SSV ficou em torno de 75%, com mínima de 11% no 70º dia e máxima de 100% no 49º dia de monitoramento, os mesmos extremos encontrados para os SST. De maneira geral, a eficiência de remoção dos SSV é maior do que em relação aos SST.

O comportamento dos Sólidos Suspensos Voláteis é apresentado na Figura 17.

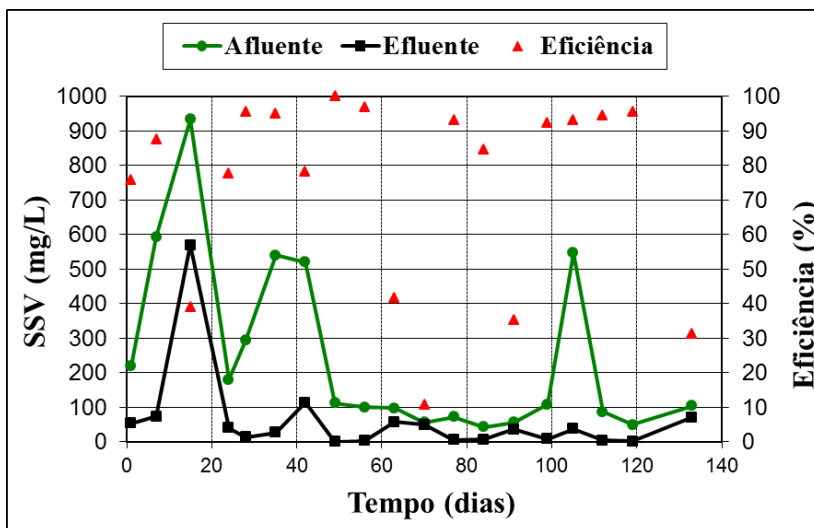


Figura 17: Valores Afluentes, Efluentes e Eficiências de Remoção dos Sólidos Suspensos Voláteis.

5.1.7. Comportamento do Reator

Diversos fatores como alcalinidade, pH, OD, temperatura, e teor de sólidos, influenciam no desempenho do reator. Neste item serão analisados os comportamentos de algumas dessas variáveis no decorrer do monitoramento.

A Figura 18 representa as quantidades de Sólidos Suspensos Totais e Voláteis no reator, bem como o teor de voláteis em relação aos totais. Porém o número de amostras (n) ficou reduzido a 13, ou seja, nos 42°, 63°, 70°, 84°, 99° e 119° dias de monitoramento, não foram realizadas as análises de sólidos no reator.

Segundo Jordão e Pessoa (2005), a concentração de Sólidos Suspensos Totais (SST) típica do processo na fase de reação é da ordem de 2 a 4 g/L. Apesar da média de SST de 4,19 g/L ser bastante próxima da faixa ideal, muitos valores ultrapassaram ou até mesmo ficaram abaixo da faixa típica. Em geral, isso não afetou significativamente o desempenho do reator, principalmente quanto a remoção de DQO_f.

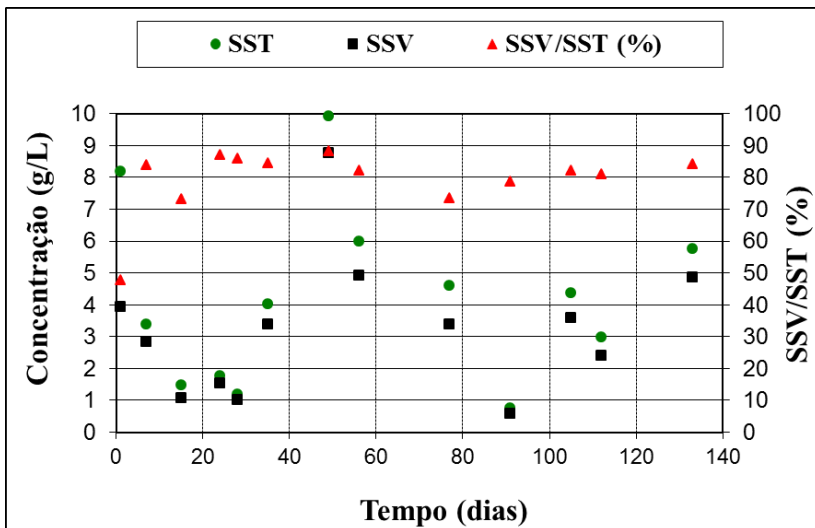


Figura 18: Comportamento dos sólidos no reator.

A porcentagem de Sólidos Voláteis em relação aos Sólidos Suspensos Totais ficou em média 79%, indicando a predominância de voláteis sobre os fixos. A variação desta relação foi de 48 a 88%, e exceto pelo extremo mínimo ocorrido no primeiro dia de monitoramento e três valores acima de 85%, os outros dias apresentaram-se dentro da faixa de 70 a 85% que, segundo Von Sperling (2002), caracteriza sistemas de lodos ativados convencionais.

Conforme a Figura 19, o pH médio foi de 6,8 no reator, variando entre 6,2 e 9. No 63º dia de monitoramento o pH foi o maior encontrado, lembrando que neste dia observou-se uma queda de energia que pode ter contribuído para o aumento do pH. Já o oxigênio dissolvido variou entre 0,3 e 2,3 mg/L, com média de 0,7 mg/L.

As condições favoráveis para que ocorra a remoção ótima da matéria carbonácea são: pH entre 6,0 e 9,0 e concentração de oxigênio dissolvido em torno de 2,0 mg/L, porém acima de 0,5 mg/L já ocorre degradação (METCALF & EDDY, 2003). Ou seja, os valores de pH encontrados no reator aos longo do monitoramento estão dentro das condições ideais para estabilização da matéria orgânica. O mesmo não ocorreu em relação ao OD, que em vários dias ficou abaixo de 0,5 mg/L.

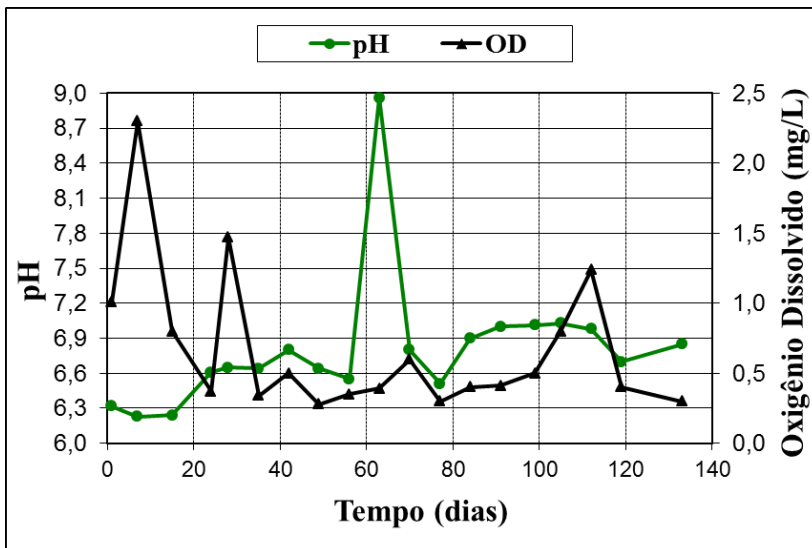


Figura 19: Comportamento do pH e do OD no reator.

De acordo com Von Sperling (2002) o sistema é controlado pelos organismos de crescimento mais lento, neste caso as nitrificantes, que possuem taxa de crescimento bastante inferior à dos microrganismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica. Para este mesmo autor e Jordão e Pessôa (2005), a nitrificação ocorre de forma constante e estável numa faixa de pH entre 7,2 a 8,6, sendo que abaixo de 6,3 o processo praticamente cessa. Os mesmos autores recomendam valores de OD acima de 2 mg/L, sendo que valores menores que 0,5 mg/L de OD podem anular a nitrificação. No caso do pH, não ocorreu nenhum dia em que o valor se encontrava dentro da faixa ideal, mas apenas em dois dias, 7º e 15º, este valor ficou abaixo de 6,3. No 7º dia, a remoção de amônia foi uma das piores encontradas ao longo do monitoramento, apenas 40%, mesmo com o valor de OD acima de 2 mg/L. No 15º dia a eficiência de remoção da amônia foi de 57%, sendo a média de 60%. Quanto ao OD, dos 19 dias monitorados 10 deles apresentaram valores menores que 0,5 mg/L e em apenas um deles, obteve-se OD acima de 2 mg/L, o que não garantiu eficiência na nitrificação.

Outra importante variável que influencia no desempenho do reator é a temperatura. Segundo Von Sperling (2002) e Jordão & Pessôa (2005) a temperatura ótima para ocorrer a nitrificação fica entre 25 e 36°C. Já para a desnitrificação, a temperatura ótima fica em torno de 35°C, mas ocorre entre 0 e 50°C (LAMEGO NETO, 2008). A Figura 20

ilustra o comportamento da temperatura no reator ao longo do monitoramento.

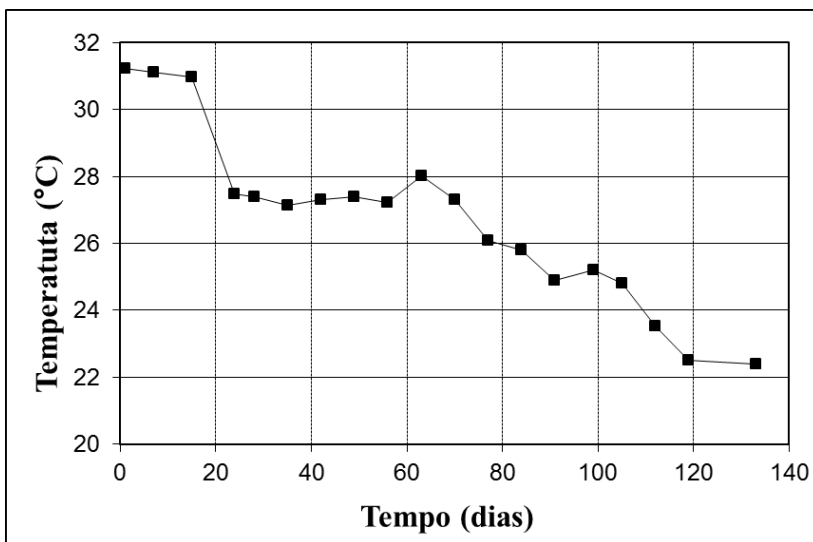


Figura 20: Comportamento da temperatura no reator.

De acordo com o gráfico acima, a temperatura se encontrava dentro da faixa ótima de nitrificação durante quase todo tempo de monitoramento, exceto nos três últimos dias monitorados (112°, 119° e 133°), onde esta esteve pouco abaixo dos 25°C, com mínima de 22,4°C. No entanto, em nenhum dos dias monitorados obteve-se 35°C, temperatura ideal para a desnitrificação, chegando à máxima de 31,2°C.

5.2. Microscopia Óptica

Através de análises microscópicas (aumento de 100X) das amostras do reator observou-se a presença de flocos de lodos bastante dispersos, pouco densos, com baixa diversidade de microrganismos e presença de poucos filamentos bacterianos.

Em todo período monitorado, foi verificada a presença de bactérias *Zooglea* (Figura 21). A presença de *Zooglea* indica que o lodo estava em fase de recuperação, já que estes organismos são típicos indicadores de início da formação de flocos (HOFFMANN et al. , 2001).

Foi observado a presença de poucos ciliados fixos do gênero *Vorticella* sp. (Figura 22). Estes organismos estão relacionados com condições estáveis de operação e, quando presentes no sistema de tratamento, provocam a clarificação do efluente final através da ação predatória sobre as bactérias livres (CANLER et al., 1999 *apud* COSTA, 2005). A presença destes organismos pode ainda estar relacionada com o local em que a amostra foi coletada (próximo ao aerador), uma vez que estes organismos são protozoários sensíveis à falta de oxigênio.

Também foram encontrados muitos ciliados livres, conforme apresentado na Figura 23. De acordo com Jenkins (1993), citado por Hein de Campos (2006), o bom desempenho do sistema depende do equilíbrio entre ciliados livres natantes, predadores de flocos e rotíferos. Os ciliados livres se alimentam de bactérias e partículas em suspensão indicando a ocorrência de nitrificação (CETESB, 1997 *apud* COSTA, 2005). Este protozoário aparece em condições estáveis de funcionamento, baixa carga orgânica e elevado oxigênio, porém se adapta facilmente a ambientes menos estáveis (HOFFMANN et al. 2001).

Os rotíferos são responsáveis pela estabilização da matéria orgânica nos lodos ativados, além de auxiliarem na penetração de oxigênio e reciclagem de nutrientes minerais. Também ajudam a manter a população bacteriana sadia e num estado de crescimento ativo, pois consomem elevado número de bactérias. Estes organismos se alimentam de bactérias não formadoras de flocos, o que contribui para diminuição da turbidez do efluente (Task Force on Wastewater Biology, 1995 *apud* MEDEIROS, 2005). Apesar de sua importância depurativa nos sistemas, ao longo dos meses monitorados foi detectada a presença de raros rotíferos.

De acordo com Branco (1986), citado por Fernandes (2009), as águas poluídas tendem a apresentar pequeno número de espécies, as quais se reproduzem rapidamente quando dispõem de alimento, pois não precisam competir com outros organismos. De maneira geral, quanto menor a diversidade e maior a abundância de organismos, pior a qualidade do efluente.

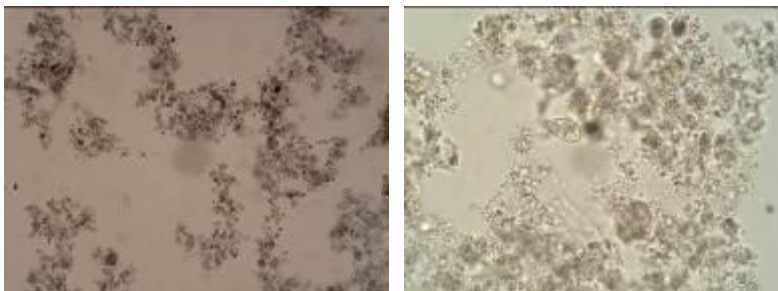


Figura 21: *Zoogloea*s presentes em amostras de lodo do reator

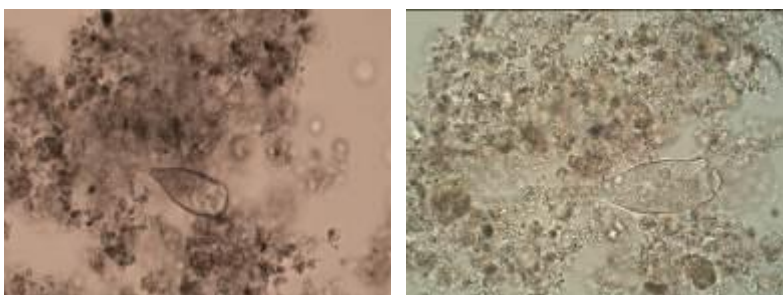


Figura 22: Microrganismos presentes no lodo do reator: *Vorticella* sp.

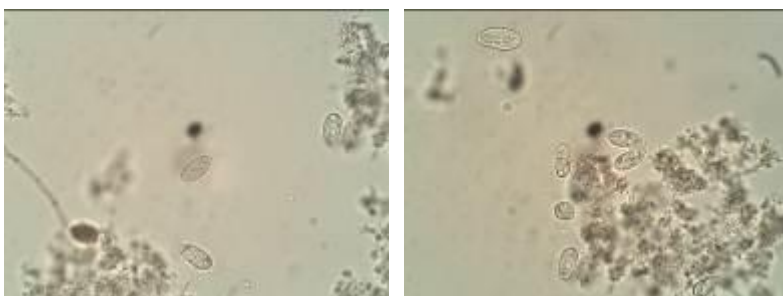


Figura 23: Ciliados livres presentes em amostras de lodo do reator.

5.3. Ensaio Respirométricos

Nos ensaios respirométricos foram medidas as taxas de consumo de oxigênio dissolvido (TCO) em três condições: respiração endógena, respiração durante a nitrificação e respiração exógena, conforme procedimentos descritos no item 4.4. As Figuras 24 e 25 representam os respirogramas obtidos com amostras do reator retirados na fase aerada

(mistura) nos meses de fevereiro e maio. É importante ressaltar que as análises, realizadas nos meses de março, abril e junho apresentaram valores de taxa de consumo de oxigênio na nitrificação negativos, não sendo portanto, apresentados os referidos gráficos. Este fato, deve-se, provavelmente, ao período de aeração (24 horas antes do ensaio) ter sido insuficiente para a degradação do substrato disponível, o que tornou o valor da taxa de consumo de oxigênio na respiração endógena superior ao valor da nitrificação.

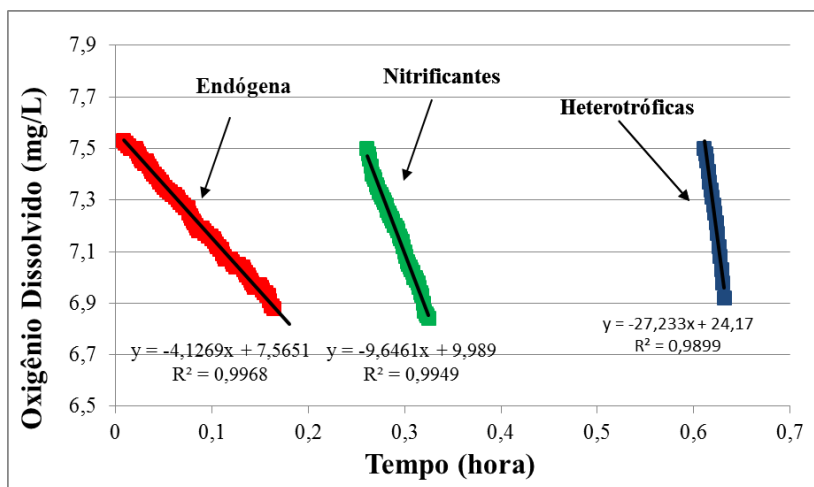


Figura 24: Respirograma obtido na amostra do reator no dia 15/02.

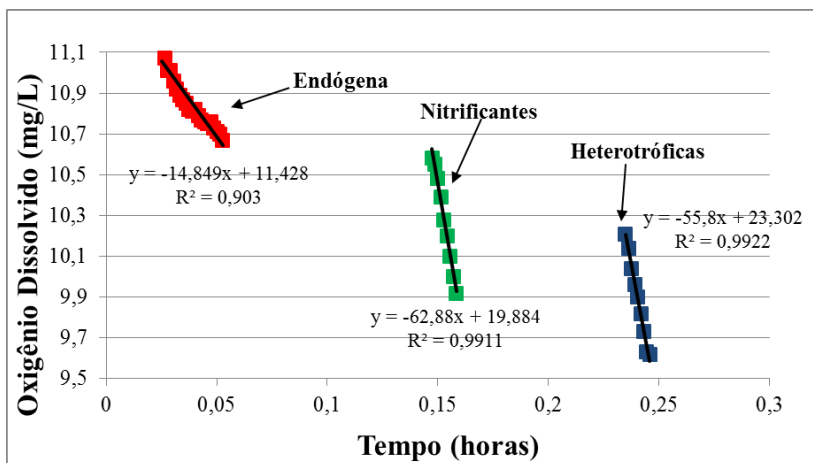


Figura 25: Respirograma obtido na amostra do reator no dia 16/05.

A Tabela 6 apresenta os valores das taxas de consumo de oxigênio durante as três condições de respiração: endógena (End.), autotrófica (Auto.) e heterotrófica (Heter.). Para obtenção das taxas de consumo autotrófica e heterotrófica (TCO_{XA} e TCO_{XH}), foram adicionados substratos específicos para cada grupo. No caso da TCO_{XA} o consumo de oxigênio necessário para metabolizar o substrato é subtraído da taxa de respiração endógena.

Tabela 6: Resultados de TCO e TCOe dos ensaios respirométricos.

Data Dia	Fase	Coefficiente Angular	TCO (mgO ₂ /Lh)	X (gSST/L)	TCOe (mgO ₂ /gSST.h)
1º- 15/02	End	4,13	4,13	1,51	2,74
	Auto.	9,65	5,52	1,51	3,66
	Heter.	27,23	27,23	1,51	18,03
91º- 16/05	End.	14,85	14,85	1,33	11,17
	Auto.	62,88	48,03	1,33	36,11
	Heter.	55,8	55,8	1,33	41,95

Na Tabela 6 verifica-se os valores das taxas de consumo de OD durante a nitrificação, 48 mgO₂/L.h no dia 16/05 e 5,52 mgO₂/L.h no dia 15/02. Medeiros et al. (2005) realizaram testes respirométricos com amostras de lodo em excesso gerado num sistema de tratamento e obtiveram uma velocidade de OD durante a nitrificação em torno de 10,8 mgO₂/L.h, após adição de 5 mgN/L de NH₄Cl.

Já para a respiração exógena, obteve-se taxas de 55,8 mgO₂/L.h e 27,2 mgO₂/L.h, nos dias 16/05 e 15/02 respectivamente. Costa et al. (2002), realizando testes respirométricos em amostras de lodo ativado de um sistema do tipo Bardenpho, obtiveram uma TCO durante a respiração exógena igual a 38,7 mgO₂/L.h, após adição de 170 mg/L de solução de acetato de sódio.

Através dos resultados das taxas de consumo de OD, calculou-se a quantidade de biomassa ativa autotrófica (X_A) e heterotrófica (X_H) no reator utilizando-se as equações 6 e 7 apresentadas no item 4.4. A Tabela 7 apresenta a repartição da biomassa no reator.

Tabela 7: Composição da biomassa ativa do reator.

<i>Data</i>	15/02	16/05
X_A (mg/L)	6,28	54,61
X_H (mg/L)	99,00	202,87
% (X_A)	5,96	21,21
% (X_H)	94,04	78,79

Pela análise da Tabela 7, observa-se uma predominância da biomassa heterotrófica no reator para os meses monitorados, além disso, pode-se perceber um aumento na concentração de biomassa autotrófica e heterotrófica ao longo do monitoramento. Wagner (2011) observou comportamento similar em uma das estratégias de sua pesquisa realizada num RBS, com 98,4% de biomassa heterotrófica e 1,2% de biomassa autotrófica no primeiro dia de operação, e 97,1% de X_H e 2,9% de X_A no último dia.

Wolff e colaboradores (2003) estudando dois reatores híbridos de leito móvel também encontraram situação similar a este estudo, ou seja, elevados valores para a fração de biomassa ativa heterotrófica, com máxima de 82% no reator com suporte de polietileno e 74% no reator contendo plástico reciclado.

5.4. Hibridização Fluorescente *in situ* - FISH

Através da análise de FISH, inicialmente, foi possível determinar as características gerais das amostras, para cada mês de monitoramento, conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8: Caracterização geral das amostras mensais.

Data	Caracterização Geral da Amostra
15/02	Amostra homogênea, bem concentrada, com flocos densos apresentando-se em grandes colônias poucos dispersas. Presença de alguns filamentos longos e ausência de materiais extracelulares.
14/03	Amostra homogênea com alguns filamentos curtos e raros filamentos longos. Colônias formando flocos e poucas células isoladas.
11/04	Amostra homogênea com flocos dispersos. Presença de colônias irregulares grandes e médias, além de bastante material extracelular. Raros filamentos curtos ou longos e raras células isoladas.
16/05	Amostra homogênea e pouco densa. Grandes e médias colônias bem distribuídas formando flocos dispersos. Presença de muitos filamentos médios e longos, além de resíduos de tecidos vegetais. Pouco material extracelular.
27/06	Amostra heterogênea com flocos bem dispersos formados por pequenas colônias. Presença de poucos filamentos curtos e médios, além de bacilos, diplobacilos e células isoladas.

A abundância de células hibridizadas foi determinada através de um método subjetivo, conforme a Tabela 3 do item 4.5. Os resultados da Figura 28 mostram que as cinco amostras analisadas apresentaram elevado número de Eubactérias, entre 80 a 90% em relação ao DAPI, indicando que grande parte das bactérias se apresentava metabolicamente ativas. Wagner e Amann (1997), citados por Bento (2005) descrevem relações EUB/DAPI de $70 \pm 7\%$ e $89 \pm 7\%$ para um sistema de lodos ativados.

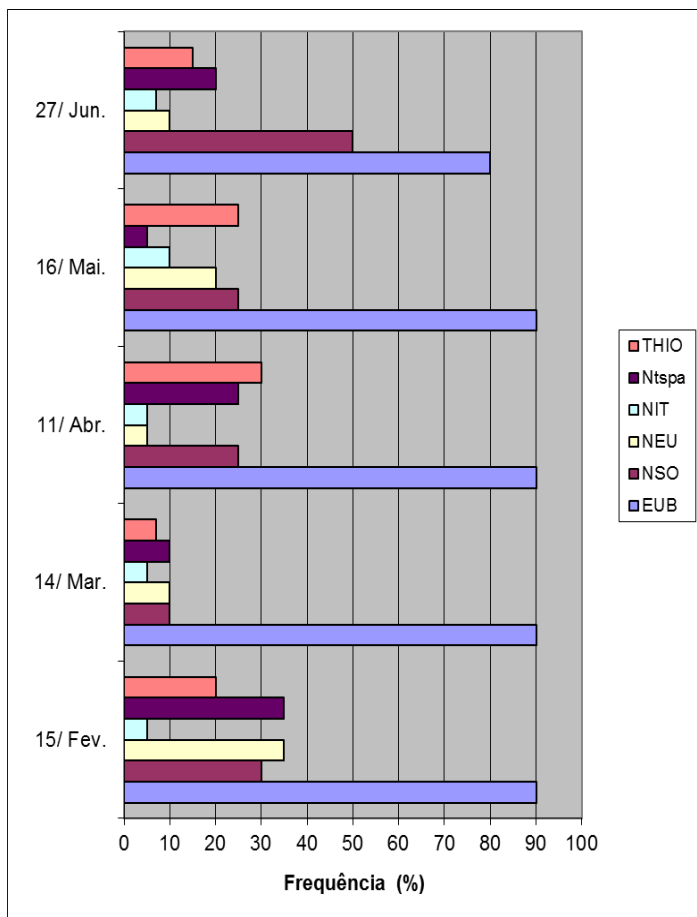


Figura 25: Quantificação dos organismos detectados através da hibridização com sondas específicas em amostras mensais do reator.

A sonda DSV, responsável pela detecção de bactérias sulfato-redutoras (SRB) e as sondas PAO 846 e PAO 651, responsáveis pela detecção de bactérias acumuladoras de fosfato, não foram incluídos no gráfico da Figura 28, pois as amostras positivas em relação ao DAPI não foram significativas, exceto pelos meses de maio e junho.

Em maio, foram detectadas poucas células hibridizadas pelo DSV (~10%) e algumas hibridizadas tanto pela sonda PAO 846 (~35%) quanto pela PAO 651 (~30%). Porém isto não garantiu boa eficiência na remoção de fósforo (~12%) ocorrida no dia 16/05.

Uma possível explicação para esta situação poderia estar relacionada com as sondas PAOs utilizadas, as quais identificam apenas organismos *Candidatus Accumulibacter* sp. bem como *Candidatus Accumulibacter phosphatis*. No entanto, a ocorrência desses organismos foi muito baixa, embora nos primeiros meses monitorados, o sistema apresentou redução de fosfato (meses de fevereiro, março e abril), com eficiências de remoção de fósforo muito maiores em relação a maio (92%, 36% e 74%, respectivamente). Tal fato pode estar relacionado com a inespecificidade da sonda para o grupo que de fato, possa estar realizando a remoção do fosfato no reator estudado, já que, outros gêneros, tais quais: *Acinetobacter* e *Rhodocylus*, por exemplo, também já foram documentadas na literatura como organismos envolvidos na acumulação de poli-P (Van HAANDEL & MARAIS, 1999). Tomando como verdadeira esta hipótese, os organismos que realmente estariam realizando a remoção do fósforo não teriam sido marcados pelas sondas PAOs.

Já no mês de junho, foram poucas as hibridizações pelas PAOs (~15% para PAO 846 e ~10% para PAO 651) e raras hibridizações para o DSV (até 5%). Thans (2008) ao realizar a técnica de FISH para analisar os microrganismos presentes em um reator de bateladas sequenciais detectou a hibridização de 15% de DSV em relação ao DAPI.

As bactérias sulfato-redutoras do gênero *Desulfobionaceae*, detectadas pela DSV, necessitam de fontes de carbono orgânico (para a biomassa) e utilizam o sulfato como aceptor de elétrons para o seu metabolismo. Elas oxidam compostos orgânicos ou H₂ com a redução do sulfato, produzindo sulfeto. Em geral, essas bactérias se desenvolvem melhor em níveis mais alcalinos de pH, superiores a 5,5 (GOVIND et al., 1999 *apud* FERNANDES 2009).

O grupo de bactérias nitrificantes foi detectado pela hibridização das sondas NSO (β proteobactérias oxidadores de amônio) e NEU (*Nitrosomonas* sp.), responsáveis pela conversão da amônia a nitrito, bem como pelas sondas Ntspa (*Nitrospira* sp.) e NIT (*Nitrobacter* sp.), as quais realizam a conversão do nitrito a nitrato. Observando a Figura 23 pode-se perceber a presença desse grupo de nitrificantes nas cinco amostras provenientes de cada mês monitorado. Apesar das análises físico-químicas realizadas com amostras do reator ao longo do monitoramento não apresentarem concentrações de nitrito e nitrato, em geral, os dias representativos de cada mês (15/02, 14/03, 11/04, 16/05 e 27/06) apresentaram boas eficiências de remoção, com mínima de 60% e máxima de 72%, com exceção do dia 14/03 que apresentou apenas

41% de eficiência de remoção da amônia. O fato de não se verificar nitrito e nitrato pode estar relacionado à NDS (nitrificação e desnitrificação simultâneas), assim estes componentes acabam não se acumulando no reator.

A amostra do dia 14/03, apresentou as menores concentrações para este grupo, com valores de no máximo 10% para as quatro as sondas. Como já foi citado e discutido anteriormente, poucos dias antes a este ocorreu uma retirada de lodo no reator, o que pode ter contribuído para diminuição desses organismos na biomassa.

No mês de fevereiro verificou-se quantidades significativas de bactérias que convertem amônia a nitrito, hibridizadas pelas sondas NEU (35%) e NSO (30%) e apesar das raras células hibridizadas para a sonda NIT a conversão do nitrito a nitrato foi garantida pelas bactérias do gênero *Nitrospira* sp., marcadas através da sonda Ntspa (35%). Conforme a Tabela 7 do item 5.2, neste mês o reator apresentava biomassa composta por 15% de organismos autotróficos garantindo assim a boa eficiência de remoção (72%) registrada no dia em que a amostra foi coletada (15/02).

A maior quantidade de células hibridizadas pela sonda NSO ocorreu no mês de junho, cerca de 50%, neste mês também foram registrados valores significativos para Ntspa (20%). Thans (2008) ao realizar a técnica de FISH para analisar os microorganismos presentes em um reator de bateladas sequenciais, encontrou os seguintes resultados em relação às bactérias nitrificantes: NEU (30%), NSO (20%) e NIT (10%).

Em sua pesquisa realizada em um reator de leito fluidizado em bateladas sequenciais, Hein de Campos (2006) encontrou, através da técnica de FISH, totalidade de eubactérias em relação às bactérias ativas no lodo, em torno de 5% DAPI de oxidadoras de amônia-N, 3% DAPI de *Nitrosomonas* e *Nitrosococcus mobilis* e quase nula a presença de *Nitrobacter* spp.

Quanto aos organismos desnitrificantes, hibridizados pela sonda THIO, foram detectados em todas as amostras, com valores mínimos e máximos de aproximadamente 7% e 30% respectivamente. A fim de determinar e quantificar as espécies de organismos presentes em um reator de bateladas sequenciais, Santana (2006) utilizou a técnica de FISH em sua pesquisa realizada em um RBS e encontrou valores entre 5 e 15% DAPI para a sonda THIO.

Nas Figuras 30, 31 e 32 são apresentadas imagens de microscopia de epifluorescência das células hibridizadas pelas sondas EUB, NEU e NIT, respectivamente.

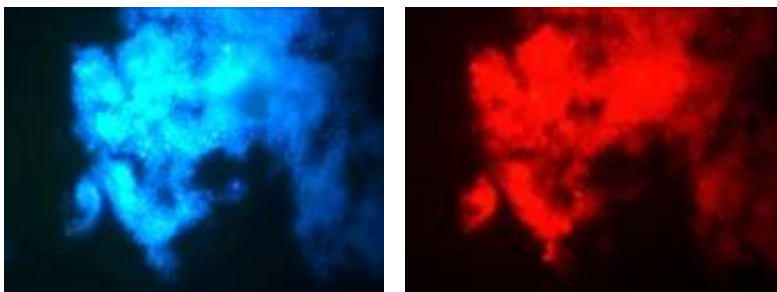


Figura 26: Células hibridizadas para análise de eubactérias no reator. A) DAPI , B) Bactérias positivas para a sonda EUB.

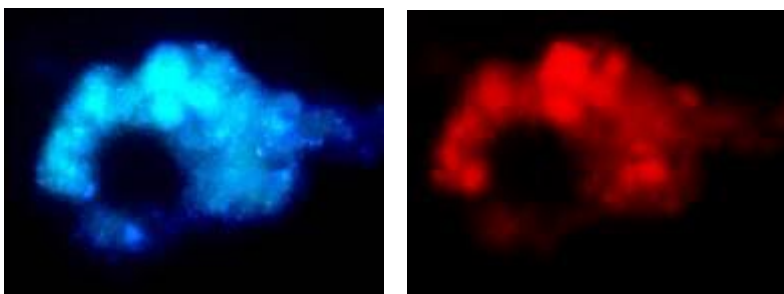


Figura 27: Células hibridizadas para análise de *Nitrosomonas sp.* no reator. A) DAPI , B) Bactérias positivas para a sonda NEU.

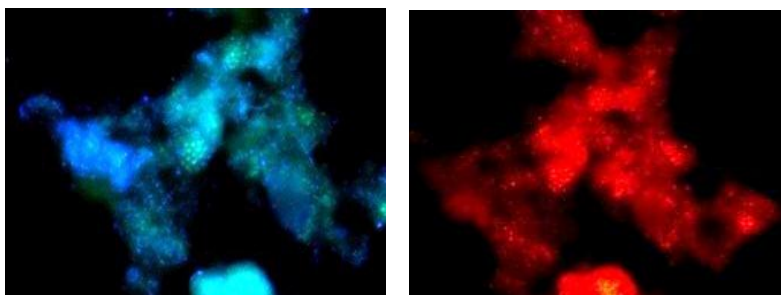


Figura 28: Células hibridizadas para análise de *Nitrospira sp.* no Reator. A) DAPI , B) Bactérias positivas para a sonda Ntspa.

6. CONCLUSÕES

Avaliando-se os resultados obtidos do monitoramento do sistema RBS, em escala real, durante 5 meses, as seguintes conclusões podem ser definidas:

- As variáveis indicadores de matéria orgânica, DQO, amônia e fosfato, apresentaram redução média de 70%, 60% e 31%, respectivamente. Quanto ao fósforo, todos os dias apresentaram concentrações efluentes excedentes ao limite permitido pela legislação de Santa Catarina 14650 (1mg/L).
- As concentrações de Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Suspensos Voláteis do reator apresentaram alta amplitude de variação, 0,8 a 9,9 g/L e 0,6 a 8,8g/L respectivamente.
- O reator apresentou baixa variação para o pH (6,2 a 7,0), com exceção do dia 18/04 onde este parâmetro apresentou valor de 9,0. A mesma situação foi verificada para o OD, que variou entre 0,3 e 0,8, com exceção de quatro dias que apresentaram valores entre 1 e 2,3 mg/L.
- Observou-se um comportamento com tendência de diminuição da temperatura ao longo do monitoramento, situação considerada normal já que esta é a tendência natural da temperatura no decorrer das estações no ano (entre fevereiro e junho).
- O sistema apresentou baixa diversidade microbiológica, com a presença de *Zoogleas*, algumas *Vorticellas* sp. isoladas, raros rotíferos e predomínio de ciliados livres. A baixa diversidade é esperada em ambientes com alta carga poluidora, indicando que no meio líquido existem elevadas concentrações de substratos orgânicos que induzem ao crescimento acelerado de determinadas espécies, em detrimento das demais.
- A respirometria revelou a predominância da biomassa heterotrófica no reator para todos os meses monitorados, variando entre 79 e 94% com relação à biomassa autotrófica.

- Por fim, através da técnica de FISH, pode-se também avaliar os grupos bacterianos presentes no reator, o qual se apresentou formado por grupos de Eubactérias em concentrações elevadas. O grupo de nitrificantes foi detectado em quantidades significativas, exceto pelo grupo *Nitrobacter* sp. que foi encontrado em concentrações inferiores. A incidência dos grupos acumuladores de fosfato e dos sulfato-redutores foi bastante baixa, com exceção dos meses de maio e junho. Os organismos desnitrificantes estavam presentes em todos os meses monitorados com menor incidência no mês de março.

7. RECOMENDAÇÕES

Em vista dos resultados obtidos, para futuros estudos nessa mesma área, são feitas as seguintes recomendações:

- Monitorar o reator sob condições de aeração contínua visando à melhoria do efluente final, principalmente em relação à amônia;
- Realizar um estudo visando à remoção de fósforo, já que o reator muitas vezes apresentou valores de concentração efluente maior que a concentração afluyente, resultando em eficiências de remoção negativas;
- Quanto aos ensaios respirométricos, recomenda-se que a amostra seja aerada por mais de 24h, visto que em alguns ensaios a respiração endógena não foi alcançada e consequentemente os resultados destes ensaios inutilizados;
- Estabelecer ciclos invariáveis em relação ao tempo, já que muitas vezes o tempo total do ciclo excedia muito às 8 horas para o qual o reator foi projetado.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMANN, R.I. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbial Reviews**. Vol. 59. 1995.

ANDREOTTOLA, G., OLIVEIRA, E.L., FOLADORI, P. Método Respirométrico para o monitoramento de processos biológicos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, 10 (1), 4-23, 2005.

APHA. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 21th Ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

BARBOSA, S.R. **Tratamento de efluentes de um reator de leito fluidizado sequencial em batelada**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

BENTO, A.P. **Tratamento de esgoto doméstico em lagoas de estabilização com suportes para o desenvolvimento de perifiton - biofilme**. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

BOUVIER, T.; GIORGIO, P.A. del. Factors Influencing the Detection of Bacterial Cells Using Fluorescence in Situ Hybridization (FISH): A quantitative review of published reports. **Microbiology Ecology**. v. 44, p. 3-15, 2003.

BRASIL. Lei Ordinária n.º 10.257 de 10 de julho de 2007.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 430/11**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Oficial da União.

CASTELLÓ, E., GHISLIERI D., ONO A., BORZACCONI, L. Optimización del funcionamiento de un SBR para la remoción de matéria orgánica y nutrientes. **In: XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**, Anais... Cancún – México, 2002.

COSTA, A. G.; FERREIRA, A. F.; GUIMARAES, P.; CATUNDA, S. Y. C.; Van HAANDEL, A. Respirometria aplicada no sistema de lodo ativado. Influencia de interrupções da oxigenação sobre a viabilidade e atividade de lodo ativado. **In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental** - ABES, 2002.

COSTA, T. B. **Desempenho de reator em batelada seqüencial (RBS) com enchimento escalonado no tratamento de esgoto sanitário doméstico**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós- graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

COSTA, A.G.; FERREIRA, A.F.; van HAANDEL, A. Monitoramento da atividade bacteriana de um sistema de lodos ativados Bardenpho por meio de respirometria. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n.1, p. 17-23, 2007.

CROCETTI, G.R. Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantification. **Applied Enviromn Microbiology**, [S.l.], v. 66, n. 3, p. 1.175-1.182, 2000.

FERNANDES, H. **A dinâmica da biota em um sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós- graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

FERREIRA, E.D.S.; SOARES, S.R.A.; BERNARDES, R.S. Uso da respirometria para caracterização de esgotos domésticos: Aplicação, limites e apresentação de método simplificado. **In: XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**, Anais... Cancún – México, 2002.

FLORIANÓPOLIS, **Decreto nº 077 de 06 de março de 1996**, que dispõe sobre Emissão de efluentes na rede pluvial, e dá outras providências.

GRADY, C.P.L.; DAIGGER, G.T.; LIM, H.C. **Biological wastewater treatment**. 2 ed. New York. Marcel Dekker, 1999.

HEIN DE CAMPOS, R. **Estudo da remoção de carbono e nitrogênio de efluentes urbanos em um reator de leito fluidizado operado em bateladas sequenciais**. Tese (Doutorado). Programa de Pós- Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

HOFFMANN, H.; BENTO, A.P.; PHILIPPI, L.S. e BELLI FILHO, P. Utilização da imagem microscópica na avaliação das condições de operação - uma aplicação da experiência da Alemanha em estações de tratamento no Brasil. **In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. João Pessoa/PB, 2001.

HOFFMANN, H; COSTA; T.B.; WOLFF; D.B.; PLATZER, C. e COSTA, R.H.R. The Potential of Denitrification for the Stabilization of Activated Sludge Processes Affected by Low Alkalinity Problems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. V. 50, n. 2: pp. 329-337. 2007.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento no Brasil. 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>

JEYANAYAGAM, S. True Confessions of the Biological Nutrient Removal Process. **Florida Water Resources Journal**: January 2005.

JORDÃO, E.P. & PESSÔA, C.A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4ª. Ed. Rio de Janeiro: ABES, 2005. 932 p.

JU, L.K.; HUANG, L.; TRIVEDI, H. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in single-tank low-dissolved-oxygen systems under cyclic aeration. **Water Environmental Research**, 79, 2007.

KIELING, D.D. **Estudo da remoção biológica de nitrogênio a partir de lodo nitrificante cultivado em meio autotrófico sob condições anóxica**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Florianópolis, 2004.

LAMEGO NETO, L.G.L. **Tratamento de esgoto urbano em reator híbrido operado em baleladas sequenciais (RHBS) submetido a variações de cargas**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

LUZ, E.L. **Tratamento de Esgoto em Reatores por Bateladas Controlados por Sistema de Telegestão e Suporte Operacional Informatizado**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental – Curso de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1998.

MARSILI-LIBELLI, S.; TABANI, F. Accuracy analysis of a respirometer for activated sludge dynamic modelling. **Water Research**, v. 36, p.1181-1192, 2002.

MEDEIROS, D.; CYBIS, L.F.; SANTOS, A.V. Remoção de matéria orgânica e nitrogênio em sistemas de lodos ativados de fluxo contínuo e em batelada: Comparação entre eficiência, sedimentabilidade e composição da microfauna. **In: XXIII Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental**, Anais... ABES, Campo Grande, 2005.

MEDEIROS, D.R. **Eficiência, Sedimentabilidade e Composição da Microfauna de Sistemas de Lodos Ativados de Fluxo Contínuo e em Batelada, removendo Nitrogênio**. Dissertação de Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: treatment, disposal and reuse**. Mc Graw Hill, 4ª ed., 2003.

MOREIRA, M.P; YAMAKAWA, C.S.; ALEGRE, R.M. Adição de Fonte de Carbono no Início da Fase Anóxica na Remoção de Macronutrientes e DQO por Lodo Ativado Usando RBS no Tratamento de Água Residuária Avícola. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.7, n. 2, 2002.

PERNTHALER, J. et al. Seasonal community and population dynamics of pelagic Bacteria and Archaea in a high mountain lake. **Applied Environmental Microbiology**. v.64, p. 4299-4306, 1998.

PIRES, M.R; FIGUEIREDO, R.F. Efeito do tempo de enchimento no desempenho de um reator tipo batelada. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, ABES - RJ, v. 3, n. 3 e 4, 1998.

PLATTES M., FIORELLI D., GILLÉ S, GIRARD C., HENRY E., MINETTE F., O'NAGY O., SCHOSSELER P.M. Modeling and dynamic simulation of a moving bed bioreactor using respirometry for the estimation of kinetic parameters. **Biochemical Engineering Journal**, 33: 253-259, 2007.

probeBASE: an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes. Disponível em <http://www.microbialecolgy.net/probebase/> - acessado em 22/11/2011.

RUBINO, F.F; ARAÚJO, O.Q.F; COELHO M.A.Z; Remoção Biológica de Nutrientes em Reatores de Bateladas Sequenciais. In: **2º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo & Gás**. Rio de Janeiro, 2003.

SANTA CATARINA. **Lei nº 14.675**, de 13 de abril de 2009. Institui o Código Estadual do Meio Ambiente e estabelece outras providências.

SANTANA, F.B. **Eliminação autotrófica de nitrogênio via Integração dos Ciclos de Nitrogênio em Reator SBR**. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2006.

SCHULER, A.J; XIAO, Y. Predicted Distributed State Effects on Enhanced Biological Phosphorus Removal in a 5-Stage Bardenpho Wastewater Treatment Configuration. **Water Environment Research**, v.80, n. 5, p. 454-463, 2008.

SOUZA, A.L.P. **A influência de micronutrientes na remoção da demanda química.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2003.

SPANJERS, H., VANROLLEGHEM, P.A., OLSSON, G., DOLD, P.L. Respirometry in control of the activated sludge process. **Water Science and Technology**, v.34, n. 3-4, p. 117-126, 1996.

THANS, F.C. **Controle operacional de reator em bateladas sequenciais (RBS): ajustes na concentração de oxigênio dissolvido visando à remoção de nutriente.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, 2008.

VAN HAANDEL, A.; MARAIS, G. **O comportamento do sistema de lodo ativado: Teoria e Aplicações para Projetos e Operação.** Campina Grande: Epgraf, 1999, 472 p. ISBN 900-847.

VON SPERLING, M. **Princípios Básicos de Tratamento de Esgotos.** Vol. 2ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. 243 p.

VON SPERLING, M. Dimensionamento de Lodos Ativados por Batelada utilizando os princípios da Teoria do Fluxo de Sólidos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, Vol. 6, n. 3, p. 147-156, jul./set., 2001.

VON SPERLING, M. **Lodos Ativados.** Vol. 4. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 2ª edição ampliada. 428 p., 2002.

WAGNER, Jamile. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios e tratamento de esgoto doméstico em um reator em bateladas sequenciais (RBS) sob diferentes condições operacionais.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. Florianópolis, 2011.

WAGNER, M.; LOY, A.; NOGUEIRA, R.; PURKHOLD, U.; LEE, N.; DAIMS, H. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. **Antonie van Leeuwenhoek** **81**:665-680, 2002.

WHANG, L.M.; PARK, J.K. Competition between Polyphosphate- and Glycogen- Accumulating Organisms in Enhanced-Biological-Phosphorus-Removal Systems: Effects of Temperature and Sludge Age. **Water Environmental Research**. Vol. 78, n. 1, p. 4–11, 2006.

WOLFF, D.B.; CHAVEZ, J.C.O.; PAUL, E.; COSTA, R.H.R. **Estudo da Biomassa Heterotrófica e Autotrófica Ativa Desenvolvida em Reatores Híbridos no Tratamento de Esgoto Urbano**. In: SINAFERM2003 – XIV Simpósio Nacional de Fermentações. Florianópolis, SC, 2003.

WOLFF, D.B. **Remoção biológica de carbono e nitrogênio de esgoto urbano em reatores híbridos utilizando dois materiais suporte flutuantes**. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.